Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

ENZYMAKTIVITÄTEN DER HEXOKINASE, GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE, PYRUVAT-KINASE UND LACTAT-DEHYDROGENASE IN DER LEBER DER RATTE NACH ORALER GABE DES HEPATOTROPEN CARCINOGENS N-NITROSOMORPHOLIN

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hans-Peter Claar

16. Dezember 1971

1972

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. F r a n k e

ENZYMAKTIVITÄTEN DER HEXOKINASE, GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE, PYRUVAT-KINASE UND LACTAT-DEHYDROGENASE IN DER LEBER DER RATTE NACH ORALER GABE DES HEPATOTROPEN CARCINOGENS N-NITROSOMORPHOLIN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

verfaßt und der Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hans-Peter Claar

16. Dezember 1971

Referent: Priv. Doz. Dr. med. H. Haug
Korreferent: Prof. Dr. med. H. Franke
Dekan: Prof. Dr. med. K. H. Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 2. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

M E I N E N E L T E R N

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Betrachtungen zur Carcinogenese	3
2. Mechanismus der Cancerisierung	4
3. Enzymologie der Tumoren	8
III. MATERIAL UND METHODIK	14
1. Versuchstiere	14
2. Gruppenbildung und Ernährung	14
3. Durchführung der Versuche	15
4. Enzymaktivitätsbestimmungen	15
5. Berechnung	19
6. Statistik	19
7. Klassifizierung der erhobenen Befunde	20
IV. ERGEBNISSE	23
1. Klinischer Zustand der Versuchstiere	23
2. Tabellen und Diagramme	24
3. Besprechung der Versuchsergebnisse	63
V. DISKUSSION	66
VI. ZUSAMMENFASSUNG	68
VII. LITERATURVERZEICHNIS	69

I. EINLEITUNG

Entsprechend ihrer funktionellen und morphologischen Differenzierung erfüllen die verschiedenen Körperzellen unterschiedliche Aufgaben für den Organismus. Sie sind deshalb mit einer charakteristischen Ausrüstung von Stoffwechselwerkzeugen, den Enzymen, versehen.

Unter physiologischen Bedingungen finden sich in den verschiedenen Geweben charakteristische Enzymmuster (SCHMIDT und SCHMIDT, 81), die bei verschiedenen Tierarten in sogenannten proportionskonstanten Gruppen aufeinander abgestimmt sind (9).

Die Enzymsynthese wird genetisch gesteuert. Nach Untersuchungen aus unserem Labor lassen sich die Enzymaktivitäten einiger wichtiger Hauptkettenenzyme einer Inzuchtrasse, bei der man gleiches genetisches Material voraussetzen kann, in gewissen Grenzen durch Umwelteinflüsse variieren. Diese Grenzen wurden genetisch determinierte Variationsbreite genannt.

In der vorgelegten Arbeit wollten wir untersuchen, ob sich unter dem Prozeß der Cancerisierung der Leber eine charakteristische Veränderung an einigen Hauptkettenenzymen nachweisen läßt, die Rückschlüsse auf eine Änderung der Metabolitenströme in der Leberzelle zulassen könnte. Wir haben dazu die Cancerisierung durch Tränkung der Tiere mit N-Nitrosomorpholin vorgenommen, wie sie in der Literatur mehrfach beschrieben wurde. Dabei entwickeln die Versuchstiere bei fortwährender Tränkung mit einem Trinkwasser, das in unserer Versuchsanordnung ca. 12 mg/100 ml N-Nitrosomorpholin enthält, mit hinreichender Zuverlässigkeit Hepatome, die bei uns in etwa 110 Tagen zu bohnengroßen Knoten von mehr als 1 gr heranwachsen konnten.

Nach Beschreibung in der Literatur (87) entwickeln sich diese Knoten aus einem bunten Bild sehr verschiedener Zellschädigungen heraus, in dem toxische, degenerative, entzündliche und regenerative Vorgänge schließlich in einer Cancerisierung münden.

Wir haben diese "Reise" der Tiere von der gesunden Leber bis zur grobknotig veränderten Leber anhand grob morphologischer Beobachtungen, die unten genau beschrieben sind, verfolgt.

In früheren Untersuchungen haben wir festgestellt, daß bei einer vorgegebenen mittleren Enzymaktivität und bei einer mittleren Leberzellmasse eine für die jeweilige Tierart charakteristische Gesamtaktivität für das jeweilige Organ angenommen werden kann.

Aus dem Querschnitt der erwähnten degenerativen, regenerativen und cancerisierenden Vorgänge, wie er in einem Homogenat großer Leberpartien vorliegt, müßten sich für die Cancerisierung charakteristische Veränderungen erkennen lassen, wenn sie einem Stoffwechselweg, bei dem das untersuchte Enzym von begrenzender Bedeutung ist, zugehören.

Diese Arbeit soll eine Annäherung an die eben skizzierten Probleme der Enzymaktivitätsregulation unter Einfluß der Cancerisierung mit N-Nitrosomorpholin bringen.

II. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

1. Betrachtungen zur Carcinogenese

1914 haben YAMAGIWA und ISCHIKAWA erstmals über die Erzeugung von Tumoren im Tierversuch berichtet. Damit war die experimentelle Krebsforschung begründet, die in den folgenden Jahren und Jahrzehnten gezeigt hat, daß mehr als 500 Agentien krebserzeugend wirken. Nur ganz wenige dieser Agentien sind dem Organismus selbst entstammend endogene Faktoren. Es handelt sich vielmehr fast ausschließlich um Faktoren aus unserer Umwelt, um exogene Faktoren (36).

Die Ergebnisse der Krebsforschung der letzten Jahre haben zu der Erkenntnis geführt, daß die Ursachen der Cancerisierung äußerst vielfältig sind. Die Problematik der Carcinogenese findet ihren Ausdruck in einer großen Anzahl von Veröffentlichungen unter spezieller Berücksichtigung der Morphologie, der chemischen Struktur carcinogener Agentien sowie der Lokalisation und Dynamik von Geschwulstzellen (15, 16, 22, 25, 31, 38, 45, 53, 55, 65, 68, 74, 75, 82, 84, 86, 87, 88, 89, 92).

Die verschiedenen Theorien der Krebsentstehung können hier nur kurz erwähnt werden. Die Mutationshypothesen der Cancerisierung, wie die Chromosomen-Mutation von BOVERI, die somatische Gen-Mutation von BAUER und die Plasma-Gen-Mutation von DARLINGTON, kamen wegen fehlender biochemischer Kenntnisse elementarer zellphysiologischer Prozesse über mehr oder weniger spekulative Ansätze nicht hinaus. Die enzymatischen Hypothesen, zu denen die Atmungsschädigung von WARBURG, die Konvergenz der Enzymmuster von POTTER-GREENSTEIN sowie die Proteinverlust-Hypothese von MILLER und MILLER gehören, konnten eine Reihe von signifikanten Unterschieden im Enzym- und Proteinmuster zwischen normalen Zellen und Krebszellen erfassen.

Als wesentliches Ergebnis biochemischer Grundlagenforschung wurde seit etwa 1950 die molekulare Struktur biologisch aktiver Makromoleküle erkannt. Ihre Bedeutung als Informationsträger und gewisse Vorstellungen über biologische Regulationsmechanismen bilden die Grundlage für das Verständnis des Wesens der Krebs-

zelle auf molekular-biologischer Ebene im Rahmen der Informations-Hypothese der Cancerisierung. Diese schließt als frühe Ursachen nicht nur Änderungen der Informationsgehalte von Nukleinsäuren durch Mutation und Transformation im weitesten Sinne, sondern auch durch Änderung von Regulationsmechanismen über Mutation von Regulatorgenen oder Verlust regulatorischer Proteine ein (36).

2. Mechanismus der Cancerisierung

Die Induktion maligner Geschwülste ist zu einem weit verbreiteten und anerkannten Verfahren der experimentellen Krebsforschung geworden.

Verschiedene Nitrosamine sowie den Nitrosaminen verwandte Substanzen, deren gemeinsames Charakteristikum die Bildung von Diazoalkanen bei der metabolischen Umwandlung im Organismus ist, haben in den letzten Jahren als cancerogene Noxen bei Tierversuchen eine besondere Bedeutung gewonnen (40).

MAGEE und BARNES (58, 70) berichteten 1956 über die Erzeugung von Leberkrebs nach Verfütterung von Nitrosodimethylamin bei Ratten.

Diese organotrope Wirkung war in erster Linie bei Substanzen zu erwarten, die als solche "inaktive Transportformen" sind, aber im Stoffwechsel zu den eigentlichen "Wirkformen" aktiviert werden (DRUCKREY und RAABE, 1952).

Die Organotropie konnte von DUTTON und HEATH 1956 damit erklärt werden, daß die Substanz vor allem in der Leber enzymatisch demethyliert wird. Das resultierende Monomethylnitrosamin zerfällt unter Bildung von Diazomethan, das nach MAGEE als alkylierendes Agens wahrscheinlich die eigentliche carcinogene "Wirkform" darstellt. Durch Gabe von ^{14}C markierten Dimethylnitrosamin an Ratten haben dann MAGEE und FARBER (1962) eine Methylierung in intakten Nucleinsäuren der Leber vor allem am N(7) des Guanins nachweisen können. Die dadurch bewirkte Veränderung der genetischen Information in den Leberzellen wird als spezifische carcinogene Primärwirkung angesehen, die hier zum ersten Male auf molekularer Ebene dem Experiment zugänglich wurde (24).

SCHMÄHL, PREUSSMANN und HAMPERL konnten 1960 nachweisen, daß neben dem Dimethylnitrosamin auch das höhere Homologe Diäthylnitrosamin eine carcinogene Wirkung entfaltet.

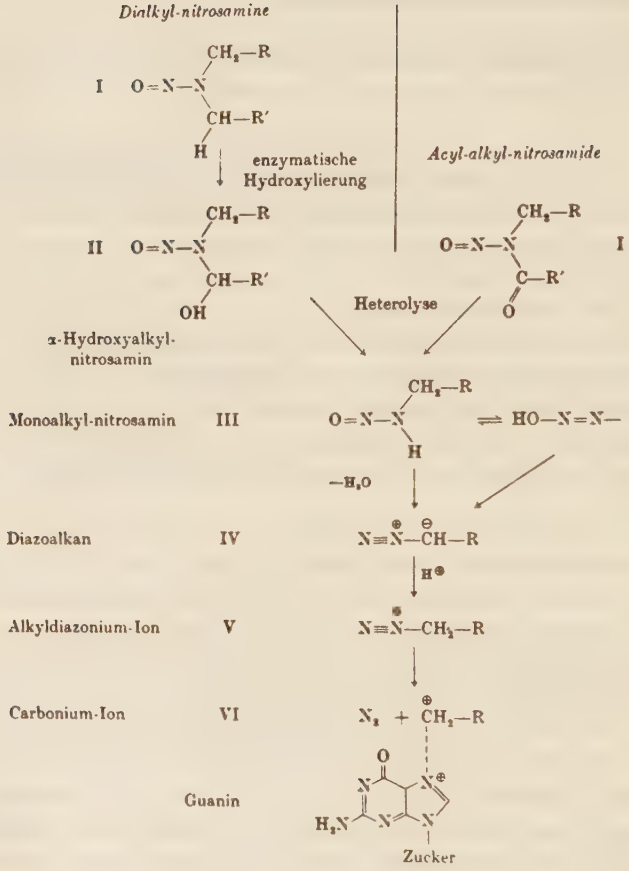
Der biochemische Reaktionsablauf (s. Formelschema) der Cancerisierung soll in mehreren Schritten ablaufen.

Der erste Schritt der metabolischen Aktivierung eines Dialkylnitrosamins (I) wird in einer enzymatischen α-C-Hydroxylierung gesehen. Das α-Hydroxyalkyl-nitrosamin (II) wird unter Abspaltung von Aldehyd (BROUWERS and EMMELOT, 1960, sowie MIZRAHI and EMMELOT, 1962) zum Monoalkyl-nitrosamin (III) dealkyliert. Diese Verbindung ist außerordentlich instabil und kann unter Abspaltung von Wasser in Diazoalkan (IV) zerfallen (MÜLLER u. Mitarb., 1960). In wässrigem Medium bei Anwesenheit von H^+-Ionen entsteht dann über das Alkyl-diazonium-Ion (V) das direkt wirkende Carbonium-Ion (VI). Das beim Zerfall des Alkyl-diazoniums auftretende Carbonium-Ion ist als die eigentliche "Wirkform" anzusehen (24).

Die selektive Erzeugung von Carcinomen in verschiedenen Organen führte zu der Annahme, daß der erste Schritt der enzymatischen Aktivierung von Dialkylnitrosaminen in einer Hydroxylierung an einem α-C-Atom zu sehen ist und demgemäß auf die Wirkung von Hydroxylasen (DRUCKREY u. Mitarb., 1961) zu beziehen ist (24). Bedeutungsvoll erscheint die Beobachtung, daß verschiedene Nitrosamine, die das gleiche Diazoalkan liefern, trotzdem selektiv in bestimmten Organen Krebs erzeugen, während andere dies im gleichen Organ tun, obwohl sie zu verschiedenen Diazoalkanen führen. Die Organotropie ist also nicht der "Wirkform", sondern dem ganzen Molekül des Nitrosamins zuzuordnen.

Da die α-Hydroxylierung den entscheidenden enzymatischen Schritt der Aktivierung darstellen soll, dürfte die Ursache für die selektive Organotropie nur an dieser Stelle liegen.

DRUCKREY und Mitarbeiter führen die nachgewiesene selektive Organotropie der carcinogenen Wirkung von Dialkylnitrosaminen auf die Wirkung von organspezifischen Enzymen, wahrscheinlich Hydroxylasen, zurück (24).



Biochemischer Reaktionsablauf der Cancerisierung

Abb. aus DRUCKREY, PREUSSMANN, IVANKOVIC und SCHMÄHL (24)

Da bei den Nitrosaminen eine große Anzahl von chemischen Abwandlungen möglich ist, wurde das Problem der Beziehungen zwischen chemischer Struktur und carcinogener Wirkung vom Arbeitskreis DRUCKREY, PREUSSMANN, SCHMÄHL und MÜLLER näher untersucht. In erster Linie interessierte dabei die Frage, ob die Substanzen je nach Art des vorhandenen Alkylrestes und der damit wahrscheinlich entstehenden Diazoalkane zu unterschiedlichen oder zu gleichartigen Geschwülsten führen. Dabei wurde zunächst festgestellt, daß die zur Krebserzeugung erforderliche Gesamtdosis (D) mit der Anzahl der C-Atome stetig von etwa 0,5 gr/kg bei der Dimethyl-Verbindung bis 28 gr/kg beim Diamyl-Nitrosamin zunimmt.

Als ein starkes und ungewöhnlich schnell wirkendes Carcinogen für die Leber erwies sich das N-Nitrosomorpholin (D≈0,7 gr/kg).

Auffällig ist, daß alle wirksamen Dialkylnitrosamine trotz der Verschiedenheit der Alkylreste zu praktisch gleichartigen Geschwulstbildungen in der Leber führen (18, 71).

Weitere Versuche zeigten, daß die Lokalisation der Geschwulstbildung von der Applikationsart abhängig ist. Diamylnitrosamin erzeugt bei oraler Gabe Leberkrebs, bei subcutaner Injektion dagegen Lungencarcinome, d. h. beide Organe sind zur Aktivierung von Dialkylnitrosaminen befähigt. Der Ort der Geschwulstbildung kann davon abhängen, in welches Organ das Cancerogen bei der gewählten Applikationsart zuerst und in höchster Konzentration gelangt. Bei parenteraler Gabe ist das die Lunge. Jedoch ist auch eine Organotropie denkbar (20).

SCHMÄHL, THOMAS und KÖNIG haben berichtet, daß nach oraler Applikation von Diäthylnitrosaminen bei Ratten neben hepatozellulären Carcinomen auch Plattenepithelcarcinome der Speiseröhre auftraten. Bei rectaler Applikation wurden dagegen keine Veränderungen der Dickdarmschleimhaut, sondern nur Leberkrebs beobachtet. Dabei blieb die Frage zu klären, ob der Speiseröhrenkrebs durch eine Organotropie oder durch unmittelbaren Kontakt des Carcinogens mit der Schleimhaut entstanden ist (72).

Hinsichtlich der Dosis-Wirkungsbeziehungen liegen von DRUCKREY und SCHMÄHL eingehende Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, daß eine bestimmte Dosis eines carcinogenen Kohlenwasserstoffs

bei fraktionierter Gabe in zahlreichen kleinen Einzeldosen über längere Zeit eine erheblich größere Ausbeute an Tumoren liefert als die seltene oder einmalige Anwendung einer größeren Dosis. Die carcinogene Wirkung wird also im Gegensatz zu anderen Giftwirkungen durch Fraktionierung nicht abgeschwächt, sondern verstärkt. Dies führt zu dem Schluß, daß die carcinogenen Effekte auch sehr kleiner Einzeldosen irreversibel fortbestehen und sich addieren. Quantitative Versuche zur Krebserzeugung haben gezeigt, daß die Wirkung bei dauernder Gabe konstanter Dosen des Carcinogens etwa mit dem Quadrat der Expositionszeit steigt, also einem beschleunigten Vorgang (BLUM) entspricht. Diese Erscheinung wurde zuerst in "Stop"-Versuchen beobachtet und als "Verstärkerwirkung" bezeichnet (DRUCKREY und KUPFMÜLLER). Die Begründung wird darin gesehen, daß die carcinogene Wirkung auf irreversiblen Veränderungen an vermehrungsfähigen Einheiten (Duplikanten, Zellen) beruht (21).

Die Carcinogenese stellt sich als beschleunigter Vorgang dar, der auch durch einen einzigen "Impuls" genügender Stärke "gestartet" werden kann. So gelang C.HUGGINS und Mitarbeitern 1961 die regelmäßige Erzeugung von Brustkrebs an Sprague-Dawley-Ratten durch einmalige Gabe von Methylcholantren.

DRUCKREY und Mitarbeiter konnten durch einmalige Dosis von Methylnitroso-Harnstoff, N-Nitrosomorpholin und anderen Carcinogenen Carcinome in verschiedenen Organen auslösen (23).

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese liegen von SCHMÄHL und Mitarbeitern (73, 76, 77, 78, 79, 80) vor. Die beiden hepatotropen Carcinogene Diäthylnitrosamin und 4-Dimethylaminoazobenzol wurden an Ratten einmal allein und einmal kombiniert in gleicher Tagesdosis verabreicht. Im Kombinationsversuch waren nur 66 % von derjenigen Gesamtdosis erforderlich, die bei alleiniger Gabe der Verbindung dazu benötigt wurde (76).

3. Enzymologie der Tumoren

Bei Durchsicht der Literatur nach Enzymaktivitätsänderungen während der Carcinogenese findet man nur eine relativ geringe Anzahl von Arbeiten im Vergleich zur Fülle der sonstigen Ver-

öffentlichungen (5, 7, 11, 12, 14, 19, 26, 29, 30, 41, 48, 50, 52, 57, 64). Uber Störungen im Enzymstoffwechsel der verschiedenen Tumoren ist, von einigen Ausnahmen abgesehen, bisher noch wenig bekannt. Nach wie vor sind die Untersuchungen von WARBURG grundlegend, der schon 1926 zeigte, daß die Krebszellen einen Gärungsstoffwechsel besitzen. Es hat sich jedoch herausgestellt, daß nicht jede hohe aerobe Glykolyse beweisend für einen Tumor ist, aber jeder Tumor zeigt aerobe Glykolyse, jedenfalls soweit er der Methode WARBURGS zugänglich ist.

Nach WARBURG ist der Übergang der atmungsgeschädigten Körperzelle in die Krebszelle ein Selektionsprozeß, indem es einigen Zellen gelingt, ihren Atmungsausfall durch Gärungsanstieg energetisch zu kompensieren (2). Als wesentliches Merkmal des Enzymsystems im Krebsgewebe ist eine Störung der Zuckerspaltung und damit in Verbindung stehend ein Enzymschaden im Bereich der Zellatmung anzusehen.

Spätere Kritiker haben nicht WARBURGS Befunde angezweifelt. Sie wurden aber als Folge eines Cancerisierungsprozesses und nicht als Ursache angenommen.

Über die verschiedenen hier untersuchten Enzyme fanden wir folgende Angaben in der Literatur:

Hexokinase (HK)

KNOX (42) beschrieb 1967 einen signifikanten Wechsel der glycolytischen Enzyme mit Anstieg der Glycolyse-Kapazität und der HK. So registrierte er einen geringen Anstieg der HK in langsam wachsenden Hepatomen, eine etwa 5-fache Steigerung in schnell wachsenden Hepatomen und eine 8-fache in Walker 256 Carcinosarkomen. Gleichzeitig verweist er auf einen anderen Autor, WEINHOUSE, der ein begrenztes Ansteigen des Glycolyseablaufs in Hepatomen durch die Enzymaktivität der HK begründet sieht.

Auch SYDOW (59) stellte eine Steigerung der HK während der Cancerisierung der Leber mit Diäthylnitrosamin fest. Zudem wurde eine auffallende Differenz der HK zwischen primären und transplantierten Hepatomen festgestellt, die einem unterschiedlichen Grad der Malignität zugeordnet wird.

DOUGLAS (17) bezieht sich bei seinen Angaben auf andere Autoren: STAVE und OEHME (1961/62) beobachteten einen 50%igen Rückgang der HK-Aktivität gegenüber der Norm in leukämischen Zellen. Auch BECK (1958) berichtet über verminderte HK-Werte bei Leukämie.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH)

HADJIOLOV (33) berichtet über histochemische Untersuchungen der G-6-PDH-Aktivität in der frühen Proliferationsphase der Lebercarcinogenese mit 4-Dimethylaminoazobenzene und männlichen Albinoratten. In der Phase der diffusen Proliferation der ovalen Zellen, bevor diese sich zu Hepatozyten differenzieren, war eine Enzymaktivität nachweisbar. Bei der Differenzierung bildeten sich dann kleinere Knoten, in deren Gallengängen und Epithel eine Aktivität der G-6-PDH nicht mehr vorhanden war.

An anderer Stelle berichten HADJIOLOV und DIKOV (34) über die Induktion von Lebertumoren mit Diäthylnitrosamin, die sich durch eine erhebliche Bösartigkeit und eine hohe G-6-PDH-Aktivität auszeichneten. Während sich in einem Teil der Tumorzellen hohe Enzymaktivitäten nachweisen ließen, konnten in anderen Teilen mit nekrobiotischen Veränderungen keine Enzymaktivitäten nachgewiesen werden. Dies könnte die verminderten Werte der G-6-PDH in Homogenaten dieser Tumoren erklären.

Weitere histochemische Untersuchungen der Cancerisierung in der Rattenleber liegen von FRIEDRICH-FRESKA, GÖSSNER und BÖRNER (28) vor. Nach Dauergabe von Diäthylnitrosamin zeigten weibliche Sprague-Dawley-Ratten bereits vor dem Auftreten der Lebercarcinome Glucose-6-phosphatase - freie, scharf abgrenzbare Zellinseln, in denen sich Glykogen anhäufte und das auch durch Hunger nicht mehr mobilisierbar war. ALBERT und ORLOWSKI (1) fanden eine normale G-6-PDH-Aktivität im Homogenat von Chrysoidin (2,4 -azodianiline)-induzierten Hepatomen von C57BL Mäusen. Ein Abfall wurde dagegen im Crocker Sarkom 180, einem spontanen Mamma-Adenocarcinom der Maus, im primären Rattenleber-Carcinom und in Transplantaten von Hamster-Hepatomen festgestellt. DE MAN (60) stellte histochemisch bei weiblichen Dimethylnitrosamin behandelten Ratten ein Absinken der zentrolobulären G-6-PDH-Aktivität fest.

WEBER (91) untersuchte das Verhalten der G-6-PDH-Aktivität während der Lebercarcinogenese an Ratten, die 150 Tage lang 4-Dimethylaminoazobenzene und eine kohlenhydratreiche Diät erhielten. Dabei zeigte sich bis zum 40. Tage ein geringer Anstieg der G-6-PDH, jedoch nach dieser Zeit eine fortschreitende Abnahme. Dagegen wurde bei der Kontrollgruppe mit kohlenhydratreicher Diät eine hohe G-6-PDH-Aktivität registriert. Gleichzeitig weist der Autor darauf hin, daß auch im Novikoff-Hepatom die G-6-PDH nicht mehr vorhanden war (WEBER and CANTERO, 1955). Zu dem gleichen Ergebnis gelangte KNOX (42), der eine Abhängigkeit des G-6-PDH Abfalles von der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren beobachten konnte. So wurde in schnell wachsenden Hepatomen eine wesentlich geringere Enzymaktivität als in langsam wachsenden festgestellt. MAGEE und BARNES (59) beziehen sich bei ihren Angaben auf zwei Autoren, HEISE und GORLICH, 1964 (37). Diese beschäftigten sich mit der Aktivität glycolytischer Enzyme in der Rattenleber während der Carcinogenese mit Diäthylnitrosamin über einen Zeitraum von 120 Tagen. Die G-6-PDH zeigte bis zum 50. Tage nur geringfügige Änderungen, nach dieser Zeit und nach dem 70. Tag jedoch jeweils einen stärkeren Abfall der Enzymaktivität. Daraus wurde geschlossen, daß der Übergang zum Tumorstoffwechsel nicht graduell, sondern in Sprüngen erfolgt. Zudem wurden die möglichen Korrelationen zwischen Enzymaktivitätsänderungen der G-6-PDH und der Malignität von Hepatomen diskutiert.

MORRIS (63) berichtet von einer geringfügigen Erhöhung der G-6-PDH im Morris-Hepatom 5123-D, einem etwa 2-fachen Anstieg im Morris-Hepatom 7800 und einem 5-fachen im Novikoff-Hepatom.

DOUGLAS (17) beruft sich bei seinen Ausführungen über die G-6-PDH auf andere Autoren: STAVE und OEHME (1961/62) berichten von einem signifikanten Abfall dieses Enzyms in parablastischer Leukämie. PEARSE (1960) beschreibt dagegen einen starken Anstieg der G-6-PDH-Aktivität in Carcinomen.

Pyruvat-Kinase (PK)

In umfangreichen Untersuchungen über das Verhalten der PK-Aktivität stellte KNOX (42) einen geringfügigen Abfall in langsam wachsenden Hepatomen fest, dagegen eine fast 10-fache Erhöhung

in schnell wachsenden Lebercarcinomen und eine mehr als 10-fache Steigerung in Walker 256 Carcinosarkomen.

Bei diesen Angaben ist jedoch zu berücksichtigen, daß die verschiedenen transplantierten Tumoren ein anderes genetisches Material haben und deshalb nicht mit Carcinomgewebe aus körpereigenen Zellen vergleichbar sind.

DOUGLAS (17) berichtet, daß die PK im fortgeschrittenen Krebsstadium und in weitverbreiteten Metastasen nur bedeutungslose Änderungen zeigt.

Lactat-Dehydrogenase (LDH)

Das Verhalten der LDH wurde von mehreren Autoren untersucht. WEBER und CANTERO (90) beschreiben ein Absinken der Enzymaktivität auf 68 % in Hepatomen und weisen an anderer Stelle (93) darauf hin, daß trotz des Abfalles der LDH die Milchsäureproduktion erhöht war. Diese Diskrepanz zwischen der vorhandenen Enzymaktivität und dem Umwandlungsprodukt wird als "Enzymverbrauch" gedeutet, hervorgerufen durch die hohe Umsetzungsrate. In einer weiteren Veröffentlichung berichtet WEBER (91) von einem Abfall der LDH-Aktivität auf weniger als 20 % in durchschnittlichen Novikoff-Hepatomzellen; die verbliebene Aktivität zeigte dennoch die Fähigkeit, den 20-fachen Betrag von Lactat zu produzieren. Dies stellt einen deutlichen Fall von statistisch signifikanter Entleerung einer Enzymaktivität ohne biologisch signifikanten Abfall der Funktion dar.

HOCH-LIGETI et al. (39) stellten fest, daß keine Änderung der Aktivität in der präcancerösen Leber und in Hepatomen durch Induktion mit Diäthylnitrosamin auftraten. In einer anderen Untersuchung von HOCH-LIGETI et al. (38) wird der bereits genannte Befund bestätigt und darauf hingewiesen, daß die LDH-Konzentration in den Lebertumoren geringer war als im umgebenden Gewebe.

Demgegenüber weist DOUGLAS (17) auf die Beziehungen zwischen hohen Enzymaktivitäten der LDH und einigen Krebstypen hin. Der Anstieg wird als uncharakteristisch für die Krebszelle angesehen und ist lediglich Ausdruck eines gesteigerten Stoffwechsels.

BURGESS und SYLVEN (10) registrierten im Plasma von Mäusen mit Mammacarcinom eine erhöhte LDH-Aktivität. Es wurde angenommen, daß ein großer Teil des Anstiegs auf die Tumorzellen zurückzuführen ist. Untersuchungen über das Verhalten der LDH in Nagetiertumoren, transplantierter Mäuseleukämie und bei Krebspatienten mit Lymphomen oder Leukämie wurden von FISHMAN (27) angestellt. Nach seiner Ansicht zeigt die LDH in Krebsgeweben keine unzureichenden Werte, die Aktivität ist ausreichend. MORRIS (63) berichtet von einer Reduktion der LDH-Aktivität in den Hepatomen Novikoff, Morris 5123 D und 7800 sowie Reuber H 35, wobei das erst genannte den stärksten Abfall zeigt; aber hier gilt das bereits Gesagte, Transplantat-Tumoren enthalten keine körpereigenen Zellen. Enzymaktivitätsvergleiche sind deshalb nur bedingt möglich. Die zitierten Arbeiten zeigen, wie uneinheitlich die Ergebnisse und Meinungen über die Aktivitäten der hier untersuchten Enzyme sind.

III. MATERIAL UND METHODIK

1. Versuchstiere

In unseren Versuchen verwendeten wir männliche Albinoratten vom Stamm Wistar B 47, die wir aus einer Labortierzucht erhalten hatten, die ihre Tiere über mehr als zehn Jahre durch ständiges Kreuzen in Inzucht fortgezüchtet hatte. Die Tiere waren 4 - 6 Wochen alt, ihr Gewicht lag zwischen 140 und 160 gr. Um eine Eingewöhnung in die neue Umgebung zu gewährleisten, überführten wir sie 15 Tage vor Versuchsbeginn. Wir hielten die Tiere in Käfigen mit Gitterböden, um dadurch eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch Coprophagie auszuschalten. Der Raum, in dem die Tiere gehalten wurden, hatte eine Temperatur von 20 - 23° C.

2. Gruppenbildung und Ernährung

Für unsere Versuche wurden 180 Ratten benötigt, die wir in vier Gruppen aufteilten:

a) 15 Tiere für Vorversuche
b) 55 Kontrolltiere
c) 100 N-Nitrosomorpholin (NNM) Tiere
d) 10 Tiere für den Auslaßversuch.

Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das nicht nur carcinogen, sondern auch toxisch wirkende Agens auszuschalten, wurde in einem Auslaßversuch das N-Nitrosomorpholin abgesetzt. Die Auslaßversuche dienten lediglich der Orientierung und sollen wegen der geringen Zahl der Tiere nicht weiter diskutiert werden.

Die Untersuchungen führten wir regelmäßig in Abständen von 10 Tagen durch und zogen dazu jeweils 10 NNM-Tiere und 5 Kontrolltiere heran. Als Nahrung bekamen alle Ratten Altromin R 15 ad libitum. Die Kontrollgruppe erhielt Leitungswasser, während die NNM-Tiere eine täglich frisch angesetzte 12 mg/100 ml NNM-Lösung ad libitum erhielten.

Die jeweils getrunkende NNM-Menge ermittelten wir durch Wiegen des in der Flasche verbliebenen Restes und rechneten die Trinkmenge auf die Zahl der Tiere um.

3. Durchführung der Versuche

In einer Reihe von Vorversuchen machten wir uns mit der optimalen Dosierung der Narkose, der Operations- und Spültechnik der Leber, sowie den erforderlichen Labormethoden für die Bestimmung der Enzymaktivitäten und Proteinbestimmung vertraut. Auf diese Weise sollte ein exaktes und zügiges Durchführen der Hauptversuche sichergestellt werden.

Wir narkotisierten die Tiere mit Äther, da dieser nicht hepatotoxisch (51) wirken und keinen Einfluß auf die zu bestimmenden Enzymaktivitäten ausüben soll.

Die Operationstechnik führten wir nach den in früheren Arbeiten (3, 6, 66, 67, 69, 85) angegebenen Methoden durch.

Nach Durchtrennen der Vena cava inferior wurde modifiziert eine von LUDEWIG und CHANUTIN (56) sowie GERSTER (32) angegebene Methode der Spülung durchgeführt.

Vom linken Ventrikel aus erfolgte die Spülung des großen Kreislaufs mit 50 ml 0,9 % NaCl-Lösung (+4° C), die der Leber führten wir von der Vena portae aus mit 40 ml 0,9 % NaCl-Lösung (+4° C) durch.

Anschließend wurde die blutleere Leber freipräpariert und entnommen.

In einem Potter-Homogenisator der Firma Braun/Melsungen wurde 1 gr auf einer analytischen Waage gewogenes Lebergewebe mit 9 ml 0,9 % NaCl bei geringer Drehzahl homogenisiert und dann in einem Zentrifugenglas 15 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand, der Mitochondrien, Ribosomen und lösliche Proteine (35) enthielt, stellte unser Stammhomogenat 1 : 10 dar, das entsprechend den einzelnen Bestimmungsmethoden mit 0,9 % NaCl weiter verdünnt wurde.

4. Enzymaktivitätsbestimmungen

Bei der Bestimmung der Enzymaktivitäten wurde besonders auf exaktes und zeitsparendes Arbeiten geachtet. Da sich die Messungen stets über etwa 4 Stunden hinzogen, bewahrten wir das Homo-

genat und die einzelnen Verdünnungen im Eisbad auf. Auf diese Weise werden die Verluste von Enzymaktivitäten gering gehalten.

Für die Messungen wurde ein Eppendorf-Photometer mit thermokonstantem Küvettenhalter (23° C) und angeschlossenem Direktschreiber verwendet.

Zur Durchführung der Enzymaktivitäts-Bestimmung benutzten wir ausschließlich Agentien und Vorschriften der Firma Boehringer/ Mannheim (BERGMEYER) [1].

Folgende Enzymaktivitäten wurden bestimmt:
a) HK
b) G-6-PDH
c) PK
d) LDH.
Mit der Biuretmethode stellten wir den Gehalt an löslichen Proteinen im Leberextrakt des Homogenates fest.

Hexokinase (HK)

1927 wurde das Enzym Hexokinase von MEYERHOF (61) in der Hefe entdeckt; die Kristallisation gelang 1946 BERGER (4) sowie KUNITZ und MC DONALD (49).
Die Hexokinase katalysiert folgende Reaktion:

Hexose + ATP $\rightleftharpoons$ Hexose-6-phosphat + ADP

Die HK-Aktivität wurde im zusammengesetzten optischen Test gemessen. In einer 2. Reaktion wird dem entstandenen Glucose-6-phosphat NADP zugesetzt. Durch die Einwirkung von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase entsteht 6-Phosphogluconat und NADPH + H^+.

Glucose-6-phosphat+$NADP^+$ $\xrightleftharpoons{\text{G-6-PDH}}$ 6-Phosphogluconat+NADPH+H^+

Als Meßgröße für die Aktivität der Hexokinase dient das ent-

---

1) Wir danken der Fa. Boehringer für eine finanzielle Unterstützung.

standene NADPH + H^+, deren Extinktionsänderung bei 366 nm gemessen wird. In Übereinstimmung mit SCHAUM (69) und PROSCH (67) sind wir folgendermaßen vorgegangen:

Lösungsansatz		Testeinsatz
Tris	0,6 gr in 100 ml H_2O	1,3 ml
Glucose	10 gr in 100 ml Tris	1,2 ml
$MgCl_2$	2,03 gr in 100 ml Tris	0,2 ml
ATP	100 mg in 10 ml Tris	0,1 ml
NADP	100 mg in 10 ml Tris	0,2 ml
Leberhomogenat	1 : 10 verdünnte Leber	0,4 ml
G-6-PDH	1 mg/1 ml + 4 ml Tris	0,01 ml

Zu dem Testeinsatz wurden 0,4 ml der unverdünnten Enzymlösung hinzugegeben.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH)

CHRISTIAN und WARBURG (13) beschrieben erstmals die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. Die Messungen haben wir mit Testpackungen der Firma Boehringer/Mannheim bei 366 nm und einer Verdünnung unseres Stammhomogenats von 1 : 10 durchgeführt.

Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase katalysiert folgende Reaktion:

$$\text{Glucose-6-phosphat} + NADP^+ \longleftrightarrow \text{Gluconsäure-6-phosphat} + NADPH + H^+$$

Das entstandene NADPH ist ein Maß für die Enzymaktivität.

Pyruvat-Kinase (PK)

Das Enzym Pyruvat-Kinase wurde erstmals 1934 von LOHMANN (54) und MEYERHOF (62) beschrieben; NEGELEIN kristallisierte es 1942 aus dem Rattenmuskel. KUBOWITZ und OTT (47) gelang 1944 die Kristallisation aus dem Menschenmuskel.

Die Pyruvat-Kinase katalysiert die folgende Reaktion:

$$\text{Phosphoenol-Pyruvat} + ADP \xleftrightarrow{K^+,\ Mg^{++}} \text{Pyruvat} + ATP$$

Die Aktivität der Pyruvat-Kinase haben wir im zusammengesetzten optischen Test nach dem Prinzip von NEGELEIN gemessen.

Die 2. Reaktion dient als Indikatorsystem, die Meßgröße ist die Abnahme der NADH-Extinktion.

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{L-Lactat} + \text{NAD}^+$$

Die Bestimmung der Pyruvat-Kinase-Aktivität haben wir mit Testpackungen der Firma Boehringer/Mannheim bei einer Wellenlänge von 366 nm und einer Verdünnung von 1 : 10 unseres Stammhomogenats durchgeführt.

Nach KREBS und EGGLESTON (43) geht ein Anstieg der PK der Glycolyse, ein Abfall der Gluconeogenese parallel.

Lactat-Dehydrogenase (LDH)

Das Enzym Lactat-Dehydrogenase wurde erstmals von STRAUB (83) aus dem Herzmuskel kristallisiert; später wurde es auch von KUBOWITZ und OTT (46) im Skelettmuskel der Ratte gefunden.

Die LDH wurde von uns mit konfektionierten Testpackungen der Firma Boehringer gemessen.

Die Messung der LDH-Aktivität haben wir bei einer Wellenlänge von 366 nm und einer Homogenatverdünnung von 1 : 500 durchgeführt. Die LDH katalysiert folgende Reaktion:

$$\text{L}_{(+)}\text{-Lactat} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Die Extinktionsänderung durch die Abnahme des NADH ist ein Maß für die LDH-Aktivität.

Proteinbestimmung im Leberhomogenat

Der Proteingehalt im Leberhomogenat wurde von uns bestimmt, weil Messungen von Enzymaktivitäten bei Bezug auf den Proteingehalt zum Teil an Aussagekraft gewinnen. Da in einer vorangegangenen Arbeit (69) festgestellt wurde, daß eine weitgehende Übereinstimmung der Proteinbestimmung im Organhomogenat nach KJELDAHL

und der Biuretmethode nach WEICHSELBAUM (94) vorliegt, bedienten wir uns der einfacheren Biuretmethode.

Die Gesamteiweißbestimmung nach der Biuretmethode beruht auf folgendem Prinzip: Die Biuretbindungen des Eiweißes bilden mit dem Biuretreagenz einen blauvioletten Farbkomplex, dessen Extinktion in 20 mm Küvetten mit dem Filter Hg 546 nm gegen den Leerwert gemessen wird. (69)

5. Berechnung

Die bei der Messung ermittelten Extinktionsänderungen der Enzymaktivitäten wurden nach folgender Formel umgerechnet:

$$EA\ (mU/gr) = E/min \times \frac{\text{Gesamt-Vol.} \times 1000 \times Fv}{3{,}3 \times \text{Homogenat-Vol.} \times d}$$

Erläuterungen:

EA	= Enzymaktivität pro Gramm Frischgewicht
E	= Extinktionsänderung
Gesamt-Vol.	= Summe aller Volumina des Testeinsatzes in der Küvette
1000	= Umrechnungsfaktor auf mU
Fv	= Verdünnungsfaktor
3,3	= Micromolarer Extinktionskoeffizient
Homogenat-Vol.	= Volumen der Homogenat-Verdünnung im Testeinsatz
d	= Schichtdicke der Küvette

Von jedem Versuchstier und von jedem Enzym ermittelten wir die Spezifische EA in mU/gr Leber.

Auf den Abdruck der Einzelergebnisse wurde wegen des großen Umfanges verzichtet.

Zur Berechnung des löslichen Proteingehalts im Leberhomogenat multiplizierten wir die jeweilige Extinktionsänderung mit dem Faktor 1,73.

6. Statistik

Zur Erhöhung der Aussagekraft unserer Ergebnisse bestimmten wir

die Enzymaktivitäten durch Umrechnung auf folgende Bezugssysteme:

1) Spezifische Aktivität = Enzymaktivität/gr Leber

2) Gesamtaktivität = Enzymaktivität/gr · Lebergewicht

3) Spezifische proteinbezogene Aktivität = $\frac{\text{Enzymaktivität/gr}}{\text{Biuretwert der Leber}}$

4) Proteinbezogene Gesamtaktivität = $\frac{\text{Enzymaktivität/ gr Lebergewicht}}{\text{Biuretwert der Leber}}$

5) Spezifische Aktivität x $\frac{\text{Körpergewicht}}{\text{Lebergewicht}}$

6) Spezifische proteinbezogene Aktivität x $\frac{\text{Körpergewicht}}{\text{Lebergewicht}}$

7) Aktivität/100 gr Körpergewicht = $\frac{\text{Enzymaktivität/gr x 100}}{\text{Körpergewicht}}$

Die Berechnungen wurden im "Institut für angewandte Mathematik" der Universität Würzburg in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. B. Knauer durchgeführt, der uns bei der Aufstellung des Rechenprogramms für den Computer EL X8 behilflich war.

Für alle gefundenen Werte wurde der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet, die wir in Form von Tabellen und Diagrammen zusammenstellten.

Um zu prüfen, ob die in den Mittelwerten errechneten Abweichungen von den Enzymaktivitäten zwischen den einzelnen Gruppen statistisch als gesichert angesehen werden können, führten wir die Varianzanalyse durch. Die Irrtumswahrscheinlichkeit P ist in den jeweiligen Tabellen angegeben. Die Signifikanzschranken wurden mit den Wissenschaftlichen Tabellen, Documenta Geigy, festgestellt.

7. Klassifizierung der erhobenen Befunde

Wir haben Einteilungen der Versuchstiere nach folgenden Gesichtspunkten durchgeführt (8):

1. Nach der Tränkungsdauer
2. Nach der durchschnittlichen Menge des inkorporierten N-Nitrosomorpholins
3. Nach grob morphologischen Befunden.

Auf Grund folgender Uberlegungen halten wir die dritte Einteilung für die einzig sinnvolle:

Ad 1.: Die Tränkungsdauer gibt kein wahres Maß für die Menge des tatsächlich inkorporierten N-Nitrosomorpholins, da Verluste der Tränkungsflüssigkeit auftreten können. Eine verschiedene Konstitution wird auch durch gleiche Mengen NNM verschieden beeinflußt.

Ad 2.: Die durchschnittliche Menge der Tränkungsflüssigkeit führt auf Grund verschiedener Konstitution zu einer sehr unterschiedlich raschen Ausprägung von pathologischen Veränderungen, so wie zum Beispiel Alkoholgenuß je nach Konstitution früher, später oder nie zu einer Cirrhose führen kann.

Würde man Gruppierungen nach den unter 1. und 2. genannten Aspekten durchführen, dann würden unterschiedliche toxische und Tumor-Stadien zusammengefaßt.

Bei Klassifizierung nach dem grob morphologischen Bild wird am besten die Gewähr gegeben sein, daß ähnlich weit fortgeschrittene pathologische Zustände zusammen fallen. Zwar bringt auch unsere Klassifizierung Fehler mit sich, diese heben sich aber bei einem großen Kollektiv gegenseitig auf.

Mit der Methode der Klassifizierung nach dem grob morphologischen Befund glauben wir ein Bezugssystem gewählt zu haben, das sich an den tatsächlichen Gegebenheiten orientiert und nicht an dem, was vielleicht sein könnte, wenn alle Tiere völlig gleichförmig N-Nitrosomorpholin trinken und Tumoren entwickeln würden.

Gruppeneinteilung auf Grund morphologischer Befunde:

Gruppen	Morphologische Veränderungen
0	Kontrollgruppe, Tiere ohne NNM
1	Normale Leber bei NNM, keine makroskopischen Veränderungen erkennbar
2	Konsistenzänderung, d. h. Verhärtung; längere Dauer beim Homogenisieren der Gewebsabschnitte
3	Rauhe Oberfläche
4	Stecknadelkopfgroße Knoten
5	Reiskorngroße Knoten
6	Erbsen- bis bohnengroße Knoten.

IV. E R G E B N I S S E

1. Klinischer Zustand der Versuchstiere

Während der Einwirkung des N-Nitrosomorpholins (NNM) zeigten die Tiere teilweise starke Veränderungen, so daß sie schon auf Grund ihres Aussehens und ihrer Verhaltensweise von den Kontrolltieren zu unterscheiden waren.

Die Kontrollgruppe entwickelte sich im Verlauf des Versuches gut. Sie nahm rasch an Gewicht zu und zeigte keinerlei Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes.

Dagegen konnten wir bei der NNM-Gruppe stark eingeschränkte Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, verzögertes Wachstum und zum Teil erheblich geringere Gewichtszunahme feststellen. Während die Kontrollgruppe eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 200 gr aufwies, betrug diese bei den NNM behandelten Tieren nur etwa 100 gr. Zudem konnten wir mit fortschreitender Versuchsdauer einen ständigen Rückgang der Nahrungsaufnahme registrieren.

In ihrer Verhaltensweise zeichneten sie sich durch verlangsamte Bewegungen und verzögerte Reaktionen aus; ihr Allgemeinzustand muß als schlecht beurteilt werden. Sie machten den Gesamteindruck eines Krebskranken.

2. Tabellen und Diagramme

Die gewonnen Untersuchungsergebnisse haben wir auf den folgenden Seiten in Form von Tabellen und Diagrammen dargestellt.

Erläuterung der Abkürzungen:

EA	= Enzymaktivität
M	= Mittelwert
St	= Standardabweichung
Abb.	= Abbildung
Tab.	= Tabelle
Gr.	= Gruppe
KG	= Körpergewicht
LG	= Lebergewicht
1 U	= 1 Unit = Enzymaktivität, die 1 uMol Substrat pro Minute und pro Bezugsgröße bei 25° C umsetzt
P	= Irrtumswahrscheinlichkeit
K- bzw. O-Gr.	= Kontrollgruppe
NNM	= N-Nitrosomorpholin
gr	= Gramm
Gr. A	= Tumortiere nach Absetzen von NNM (Auslaß-versuch)
N	= Anzahl der Tiere in den einzelnen Gruppen
HK	= Hexokinase
G-6-PDH	= Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
PK	= Pyruvat-Kinase
LDH	= Lactat-Dehydrogenase

TABELLEN UND DIAGRAMME

Tab. 1 a

Spezifische Aktivität der HK

(U/gr Frischgewicht)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	2,906	1,193	-	-	-	-
2	20	2,847	2,090	-	-	-	-
3	21	2,150	0,894	-	-	-	-
4	18	1,633	0,899	4	4	2,515	0,248
5	11	2,831	0,961	5	3	2,195	0,176
6	3	2,580	0,260	6	3	2,836	1,180
K	55	2,023	1,029	K	55	2,023	1,029
	$P < 0,05$				$P > 0,05$		

Tab. 1 b

Totale EA der HK

(U im ganzen Organ)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	31,539	15,390	-	-	-	-
2	20	42,298	35,147	-	-	-	-
3	21	27,910	12,037	-	-	-	-
4	18	22,813	15,640	4	4	59,086	13,878
5	11	32,097	11,472	5	3	40,807	3,054
6	3	39,845	20,583	6	3	60,845	32,844
K	55	34,014	19,692	K	55	34,014	19,692
	$P > 0,05$				$P > 0,05$		

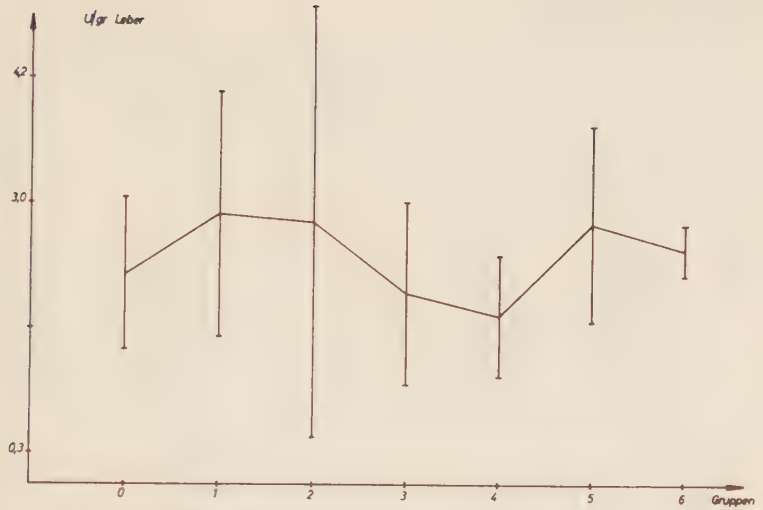


Abb. 1a Spezifische Aktivität der HK

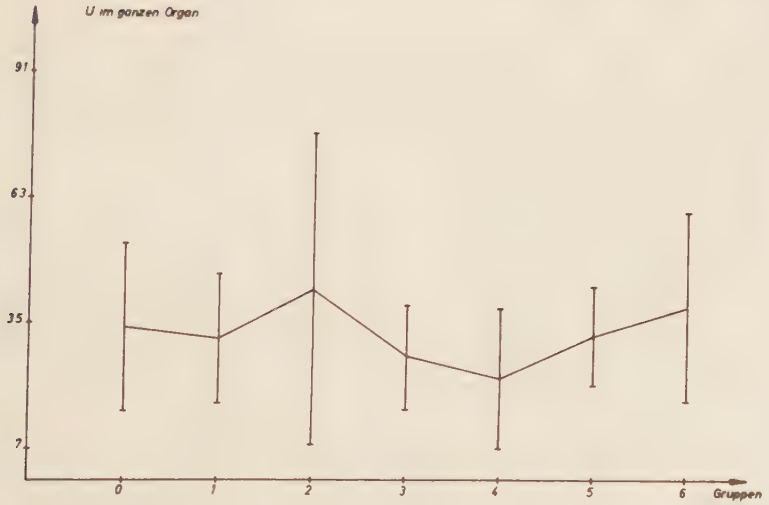


Abb. 1b Totale Aktivität der HK

Tab. 1 c

Spezifische proteinbezogene EA der HK

(U/gr Extraktprotein)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	38,466	17,610	-	-	-	-
2	20	30,931	28,246	-	-	-	-
3	21	21,611	11,196	-	-	-	-
4	18	15,575	9,798	4	4	27,229	5,657
5	11	26,798	19,216	5	3	21,563	3,153
6	3	26,664	3,289	6	3	19,418	9,755
K	55	21,062	15,546	K	55	21,062	15,546
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 1 d

Totale proteinbezogene EA der HK

(U/gr Protein x LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	435,48	272,07	-	-	-	-
2	20	434,26	352,48	-	-	-	-
3	21	274,79	139,23	-	-	-	-
4	18	221,08	174,48	4	4	636,74	174,11
5	11	329,81	310,58	5	3	401,14	60,92
6	3	409,54	210,34	6	3	421,12	276,33
K	55	353,86	297,08	K	55	353,86	297,08
	$P > 0,05$				$P > 0,05$		

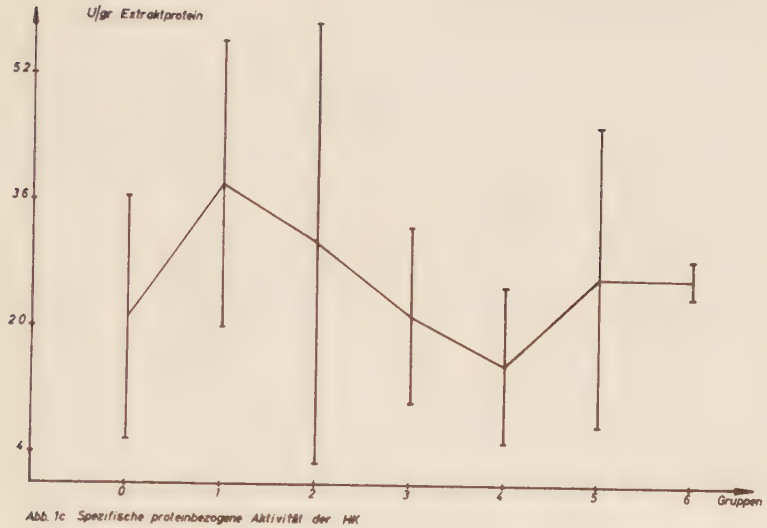


Abb. 1c Spezifische proteinbezogene Aktivität der HK

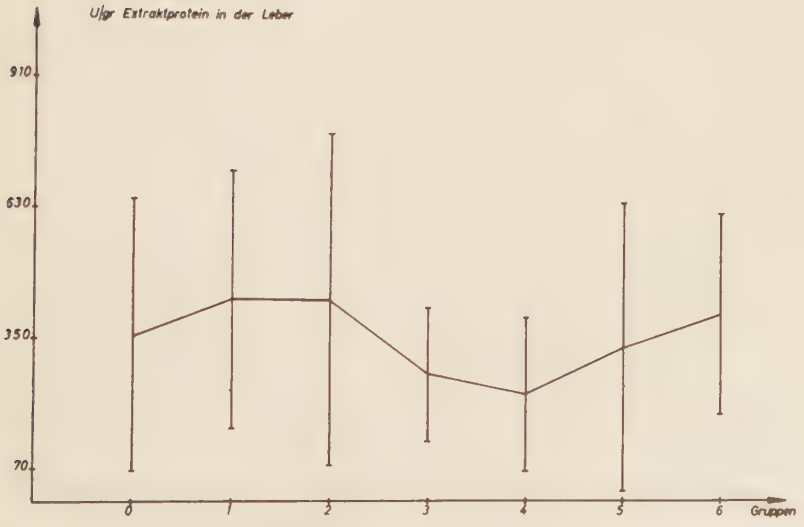


Abb. 1d Totale proteinbezogene Aktivität der HK

Tab. 1 e

Spezifische EA der HK x KG/LG

(U/gr Leber x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	55,845	35,620	-	-	-	-
2	20	52,807	50,115	-	-	-	-
3	21	42,979	17,155	-	-	-	-
4	18	28,692	14,961	4	4	33,941	4,044
5	11	52,935	26,142	5	3	31,756	2,748
6	3	47,805	15,093	6	3	33,028	9,610
K	55	39,800	20,301	K	55	39,800	20,301
	P < 0,05				P > 0,05		

Tab. 1 f

Spezifische proteinbezogene EA der HK x KG/LG

(U/gr Protein x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	707,42	343,33	-	-	-	-
2	20	576,48	477,33	-	-	-	-
3	21	438,57	239,00	-	-	-	-
4	18	271,72	154,97	4	4	373,80	111,55
5	11	482,33	338,90	5	3	317,89	98,23
6	3	497,08	176,89	6	3	221,61	57,80
K	55	399,70	268,84	K	55	399,70	268,84
	P < 0,01				P > 0,05		

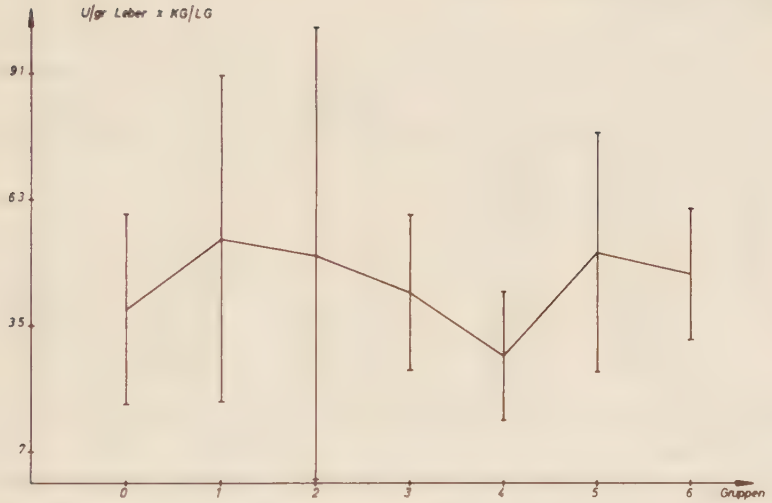


Abb. 1e Spezifische Aktivität der HK x Körpergewicht/Lebergewicht

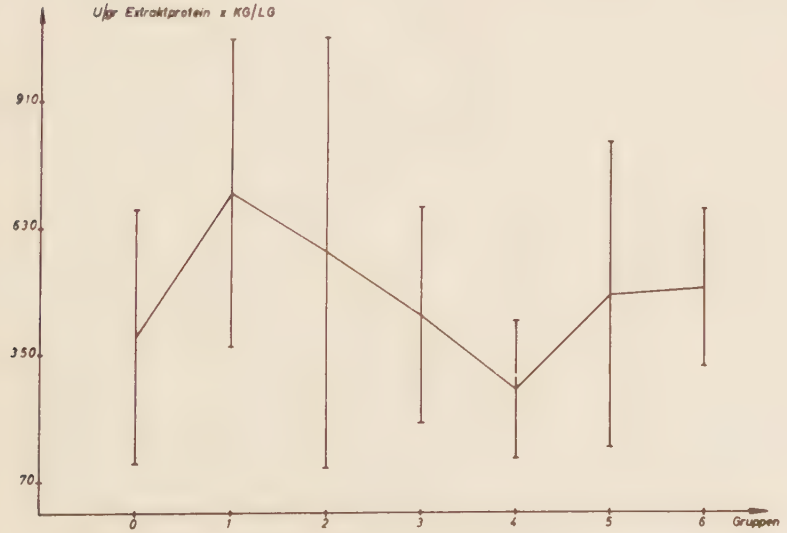


Abb. 1f Spezifische proteinbezogene Aktivität der HK x Körpergewicht/Lebergewicht

Tab. 1 g

Aktivität der HK/100 gr KG

(U/100 gr KG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	1,547	0,782	-	-	-	-
2	20	1,136	0,966	-	-	-	-
3	21	0,863	0,439	-	-	-	-
4	18	0,710	0,423	4	4	0,817	0,162
5	11	1,406	0,587	5	3	0,827	0,207
6	3	1,006	0,126	6	3	1,165	0,553
K	55	0,648	0,372	K	55	0,648	0,372
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

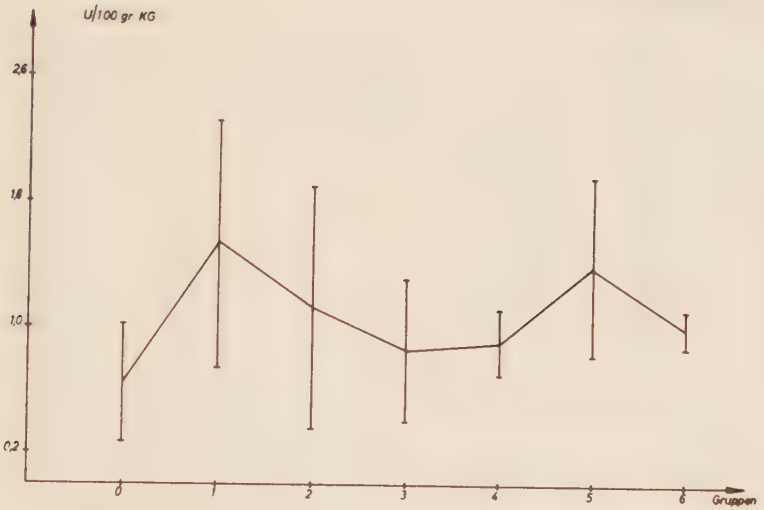


Abb. 1g Aktivität der HK/100 gr Körpergewicht

Tab. 2 a

Spezifische EA der G-6-PDH

(U/gr Frischgewicht)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	1,244	0,589	-	-	-	-
2	20	2,185	1,193	-	-	-	-
3	21	2,652	1,514	-	-	-	-
4	18	3,983	1,826	4	4	4,125	3,241
5	11	6,481	2,313	5	3	6,150	5,434
6	3	6,466	2,328	6	3	9,533	2,159
K	55	0,773	0,525	K	55	0,773	0,525
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 2 b

Totale EA der G-6-PDH

(U im ganzen Organ)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	12,565	4,389	-	-	-	-
2	20	30,838	21,925	-	-	-	-
3	21	35,196	23,969	-	-	-	-
4	18	56,025	31,849	4	4	99,233	80,113
5	11	79,006	44,920	5	3	114,020	109,000
6	3	105,950	66,893	6	3	197,710	55,537
K	55	12,467	8,715	K	55	12,467	8,715
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

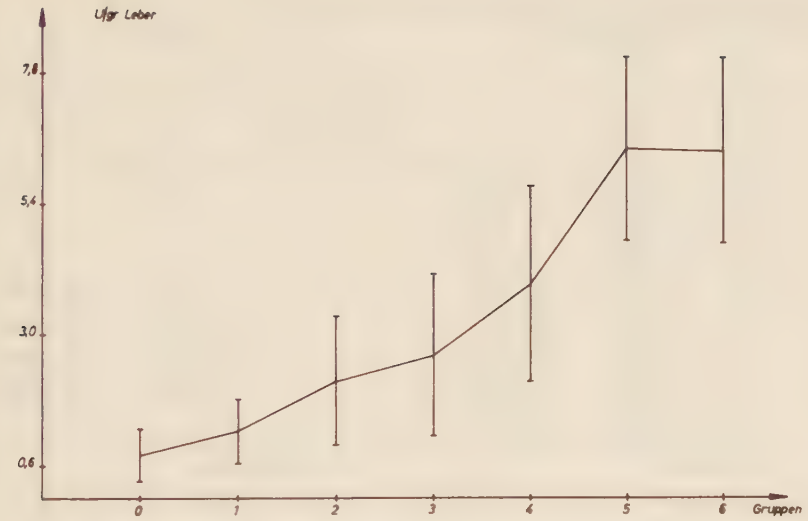


Abb.2a Spezifische Aktivität der G-6-PDH

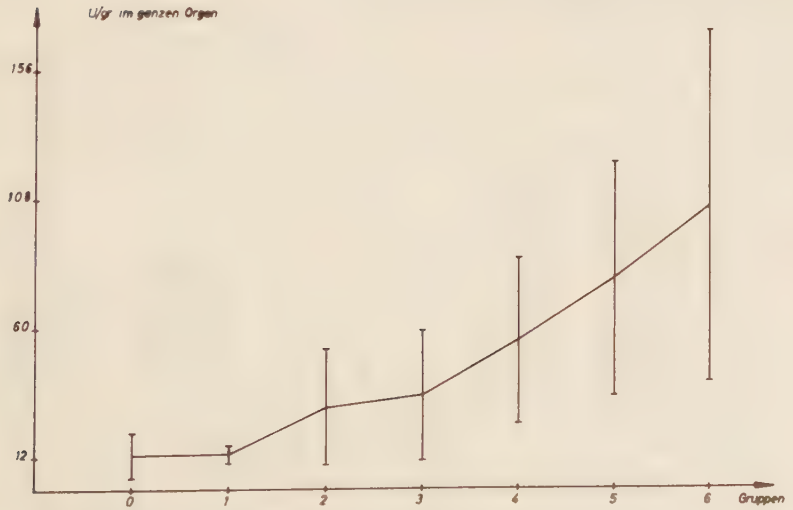


Abb.2b Totale Aktivität der G-6-PDH

Tab. 2 c

Spezifische proteinbezogene EA der G-6-PDH

(U/gr Extraktprotein)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	15,750	7,166	-	-	-	-
2	20	22,321	9,756	-	-	-	-
3	21	26,238	15,533	-	-	-	-
4	18	36,674	14,968	4	4	41,509	25,658
5	11	58,727	36,148	5	3	53,779	47,046
6	3	66,126	21,928	6	3	63,857	8,180
K	55	8,436	8,146	K	55	8,436	8,146
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 2 d

Totale proteinbezogene EA der G-6-PDH

(U/gr Protein x LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	165,09	75,08	-	-	-	-
2	20	307,39	180,26	-	-	-	-
3	21	343,14	229,17	-	-	-	-
4	18	522,52	292,59	4	4	994,42	641,82
5	11	760,52	629,16	5	3	997,36	924,90
6	3	1081,10	677,70	6	3	1334,20	382,70
K	55	130,58	100,56	K	55	130,58	100,56
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

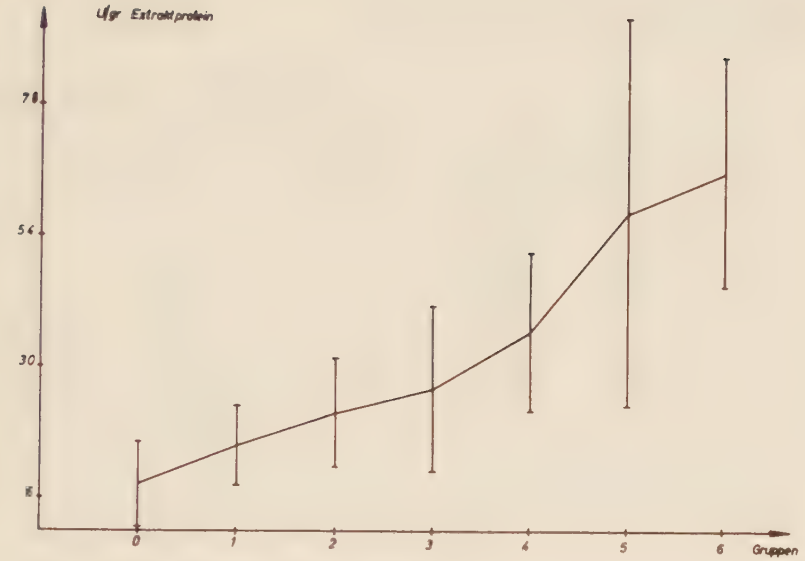


Abb.2c Spezifische proteinbezogene Aktivität der G-6-PDH

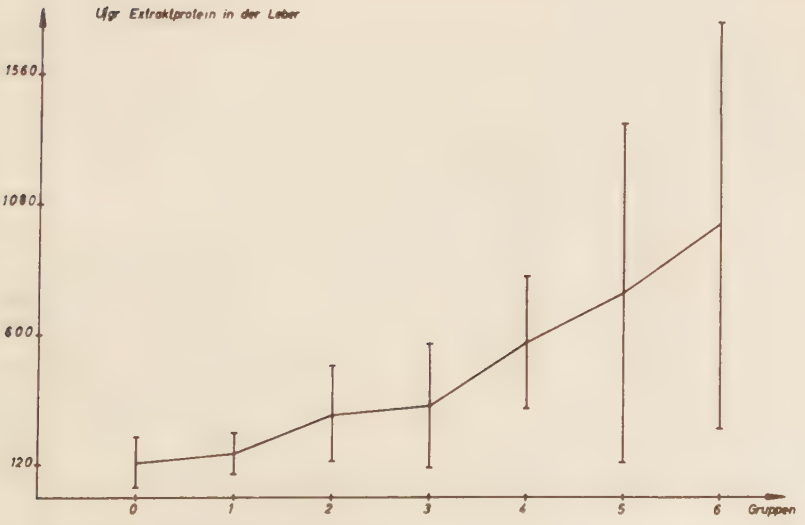


Abb.2d Totale proteinbezogene Aktivität der G-6-PDH

Tab. 2 e

Spezifische EA der G-6-PDH x KG/LG

(U/gr Leber x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	24,865	18,513	-	-	-	-
2	20	42,091	24,662	-	-	-	-
3	21	52,857	29,019	-	-	-	-
4	18	72,485	36,147	4	4	51,532	32,524
5	11	115,880	35,584	5	3	81,771	78,805
6	3	112,090	22,926	6	3	116,590	34,949
K	55	15,700	12,449	K	55	15,700	12,449
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 2 f

Spezifische proteinbezogene EA der G-6-PDH x KG/LG

(U/gr Protein x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	302,14	175,06	-	-	-	-
2	20	428,59	207,92	-	-	-	-
3	21	529,65	319,34	-	-	-	-
4	18	668,06	296,79	4	4	529,49	251,81
5	11	1020,50	563,31	5	3	722,60	598,49
6	3	1150,90	189,74	6	3	770,27	76,43
K	55	172,16	118,39	K	55	172,16	118,39
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

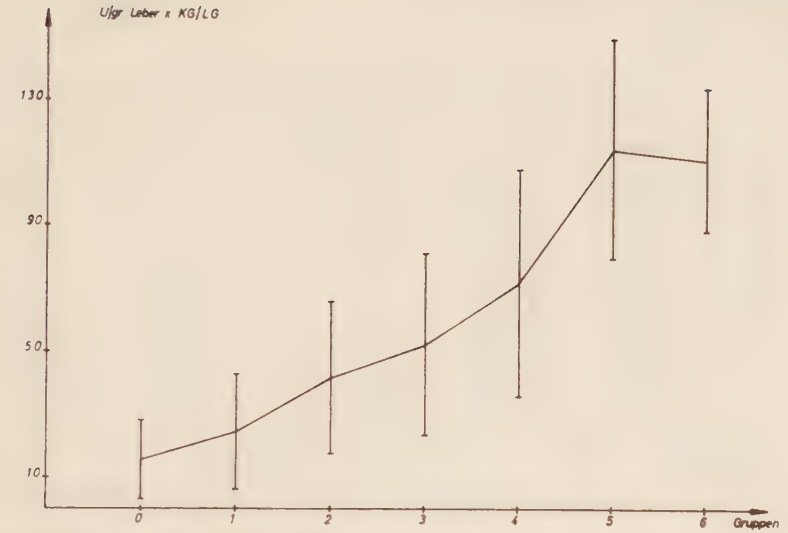


Abb.2e Spezifische Aktivität der G-6-PDH x Körpergewicht/Lebergewicht

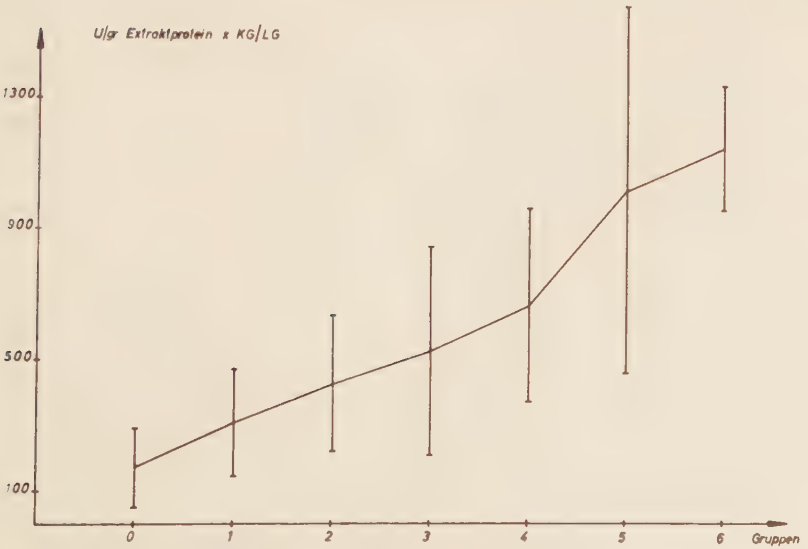


Abb.2f Spezifische proteinbezogene Aktivität der G-6-PDH x Körpergewicht/Lebergewicht

Tab. 2 g

Aktivität der G-6-PDH/100 gr KG

(U/100 gr KG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	0,683	0,430	-	-	-	-
2	20	0,869	0,430	-	-	-	-
3	21	1,053	0,651	-	-	-	-
4	18	1,647	0,725	4	4	1,403	1,272
5	11	3,129	0,939	5	3	2,511	1,806
6	3	2,470	0,759	6	3	3,849	0,819
K	55	0,252	0,184	K	55	0,252	0,184
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

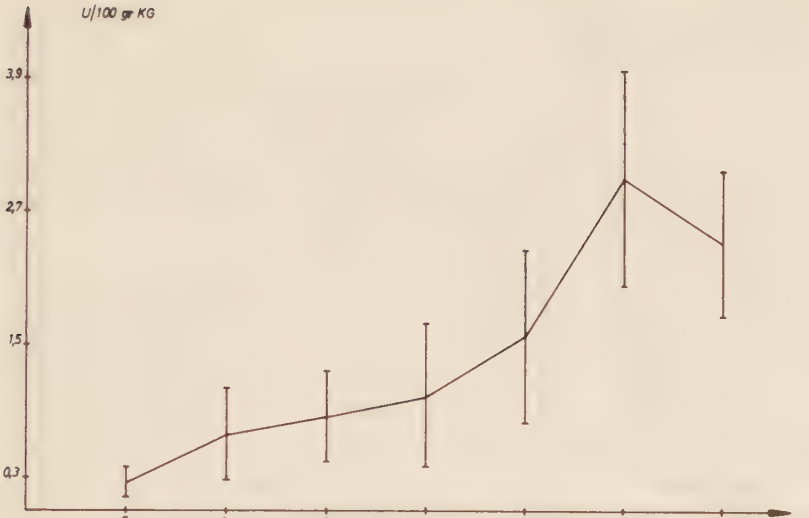


Abb.2g Aktivität der G-6-PDH/100 gr Körpergewicht

Tab. 3 a

Spezifische EA der PK

(U/gr Frischgewicht)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	0,380	0,193	-	-	-	-
2	20	0,546	0,201	-	-	-	-
3	21	0,579	0,196	-	-	-	-
4	18	0,582	0,188	4	4	0,418	0,224
5	11	0,691	0,158	5	3	0,444	0,317
6	3	0,535	0,141	6	3	0,747	0,363
K	55	0,382	0,181	K	55	0,382	0,181
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 3 b

Totale EA der PK

(U im ganzen Organ)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	3,924	1,513	-	-	-	-
2	20	7,472	3,438	-	-	-	-
3	21	7,699	3,473	-	-	-	-
4	18	7,992	3,029	4	4	10,342	6,306
5	11	7,823	2,326	5	3	8,248	5,856
6	3	8,311	4,092	6	3	16,113	10,346
K	55	6,385	3,244	K	55	6,385	3,244
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

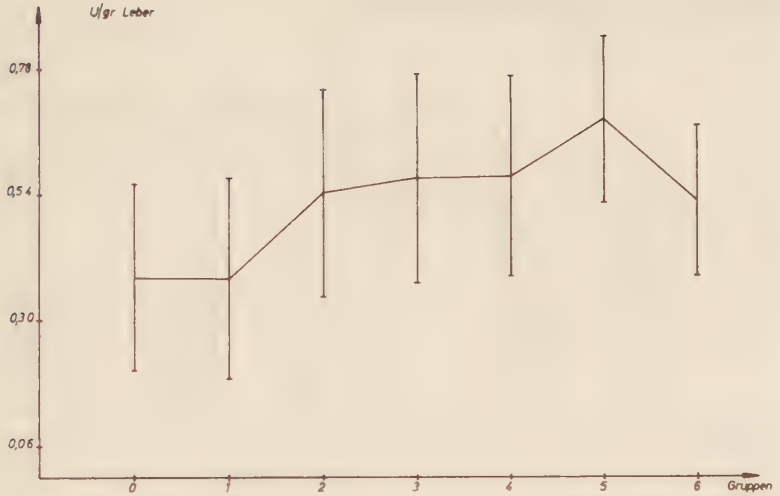


Abb.3a Spezifische Aktivität der PK

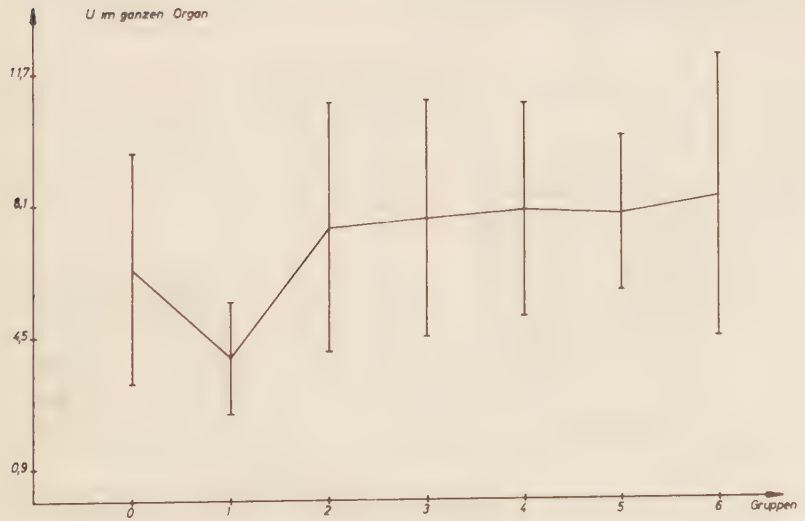


Abb.3b Totale Aktivität der PK

Tab. 3 c

Spezifische proteinbezogene EA der PK

(U/gr Extraktprotein)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	4,745	1,922	-	-	-	-
2	20	5,721	1,745	-	-	-	-
3	21	5,727	2,426	-	-	-	-
4	18	5,362	1,357	4	4	4,355	1,940
5	11	6,111	3,044	5	3	4,051	2,154
6	3	5,489	1,226	6	3	5,410	3,406
K	55	3,727	2,319	K	55	3,727	2,319
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 3 d

Totale proteinbezogene EA der PK

(U/gr Protein x LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	51,278	24,471	-	-	-	-
2	20	76,559	31,134	-	-	-	-
3	21	75,075	40,952	-	-	-	-
4	18	74,576	28,743	4	4	107,060	54,949
5	11	74,146	52,413	5	3	75,230	39,625
6	3	84,850	40,443	6	3	117,430	90,994
K	55	61,830	39,982	K	55	61,830	39,982
	$P > 0,05$				$P > 0,05$		

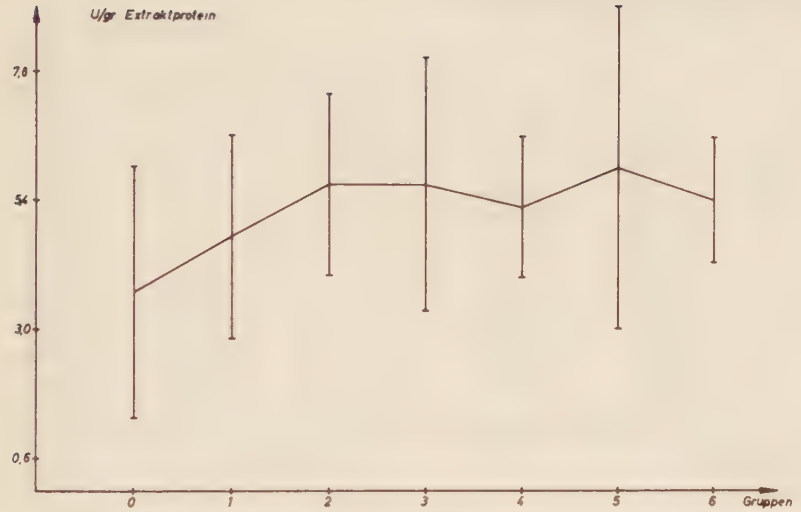


Abb. 3c Spezifische proteinbezogene Aktivität der PK

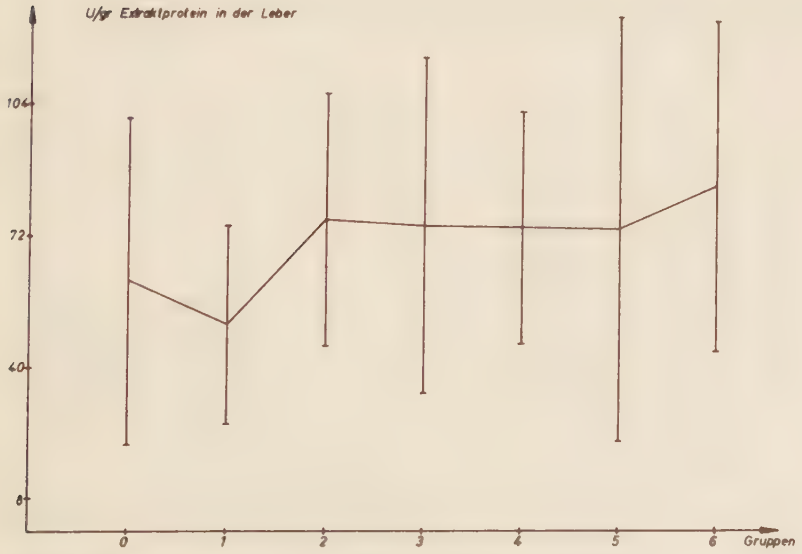


Abb. 3d Totale proteinbezogene Aktivität der PK

Tab. 3 e

Spezifische EA der PK x KG/LG

(U/gr Leber x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	7,593	6,791	-	-	-	-
2	20	10,674	4,962	-	-	-	-
3	21	11,583	3,618	-	-	-	-
4	18	10,678	3,895	4	4	5,262	2,168
5	11	12,994	4,975	5	3	6,089	3,546
6	3	9,677	2,506	6	3	8,596	2,224
K	55	7,851	4,371	K	55	7,851	4,371
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 3 f

Spezifische proteinbezogene EA der PK x KG/LG

(U/gr Protein x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	90,195	51,857	-	-	-	-
2	20	110,710	42,003	-	-	-	-
3	21	116,140	51,528	-	-	-	-
4	18	99,175	37,296	4	4	56,014	21,473
5	11	110,760	55,245	5	3	56,403	21,546
6	3	99,695	24,876	6	3	61,392	26,668
K	55	74,807	54,318	K	55	74,807	54,318
	$P < 0,05$				$P > 0,05$		

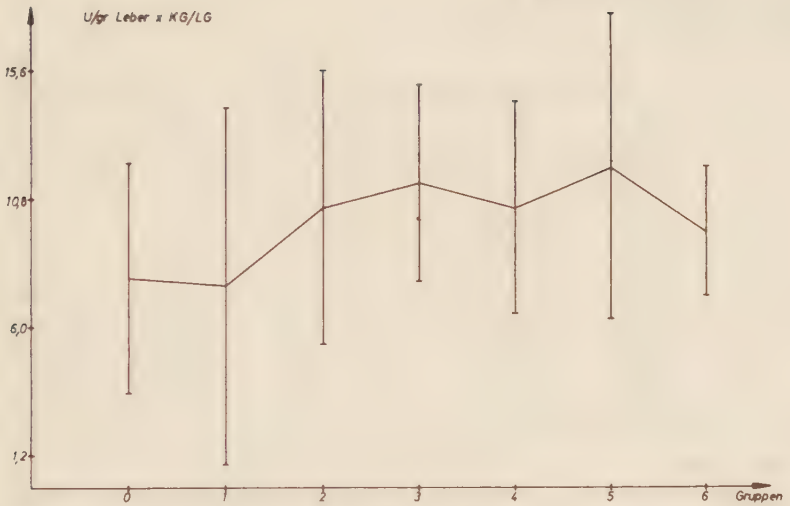


Abb. 3e Spezifische Aktivität der PK x Körpergewicht/Lebergewicht

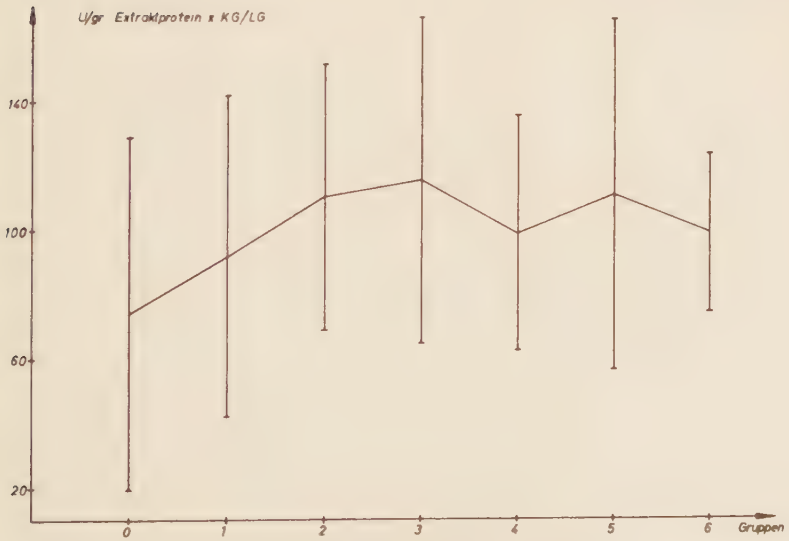


Abb. 3f Spezifische proteinbezogene Aktivität der PK x Körpergewicht/ Lebergewicht

Tab. 3 g

Aktivität der PK/100 gr KG

(U/100 gr KG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	0,206	0,140	-	-	-	-
2	20	0,220	0,073	-	-	-	-
3	21	0,228	0,094	-	-	-	-
4	18	0,245	0,102	4	4	0,136	0,082
5	11	0,341	0,093	5	3	0,176	0,147
6	3	0,208	0,056	6	3	0,310	0,177
K	55	0,117	0,054	K	55	0,117	0,054

$P < 0,01$ $P > 0,05$

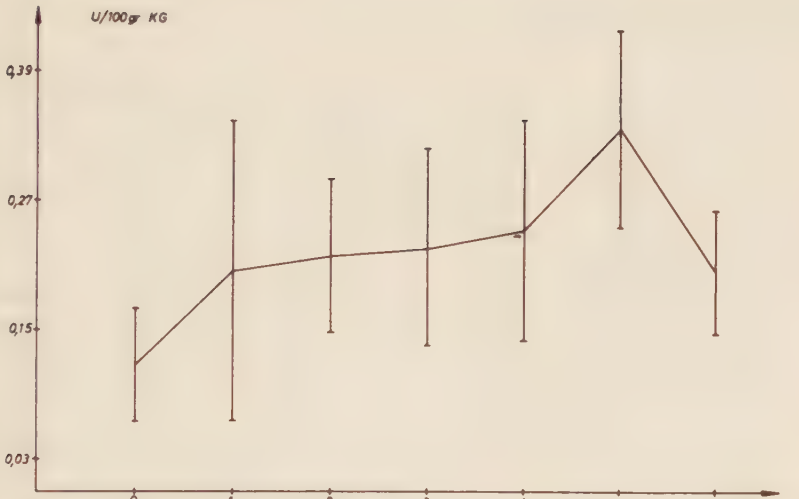


Abb. 3g Aktivität der PK/ 100gr Körpergewicht

Tab. 4 a

Spezifische EA der LDH

(U/gr Frischgewicht)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	13,863	4,852	-	-	-	-
2	20	17,030	8,255	-	-	-	-
3	21	18,214	7,531	-	-	-	-
4	18	18,883	5,474	4	4	15,025	1,405
5	11	16,236	5,317	5	3	15,250	1,343
6	3	16,200	6,700	6	3	17,167	2,494
K	55	19,522	7,789	K	55	19,522	7,789
	$P < 0,05$				$P > 0,05$		

Tab. 4 b

Totale EA der LDH

(U im ganzen Organ)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	153,88	79,36	-	-	-	-
2	20	229,64	106,84	-	-	-	-
3	21	249,92	148,08	-	-	-	-
4	18	262,39	102,12	4	4	348,27	53,51
5	11	196,64	102,44	5	3	283,50	23,36
6	3	259,02	151,85	6	3	350,79	43,39
K	55	334,94	172,47	K	55	334,94	172,47
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

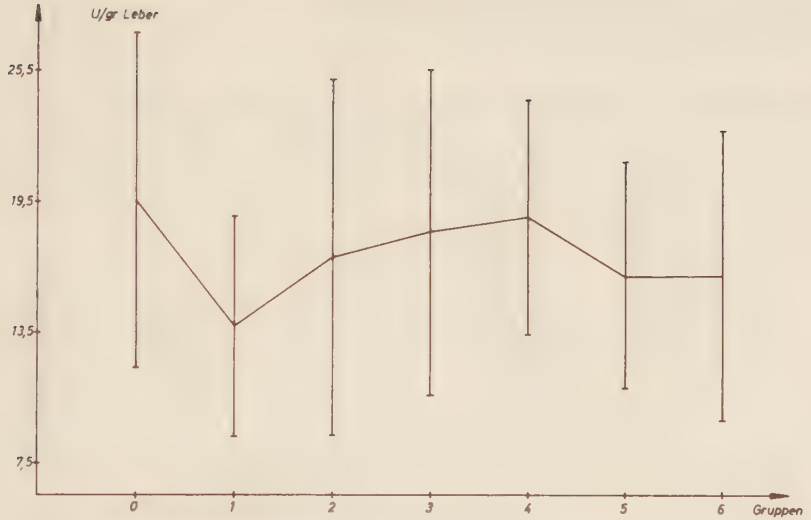


Abb. 3a Spezifische Aktivität der LDH

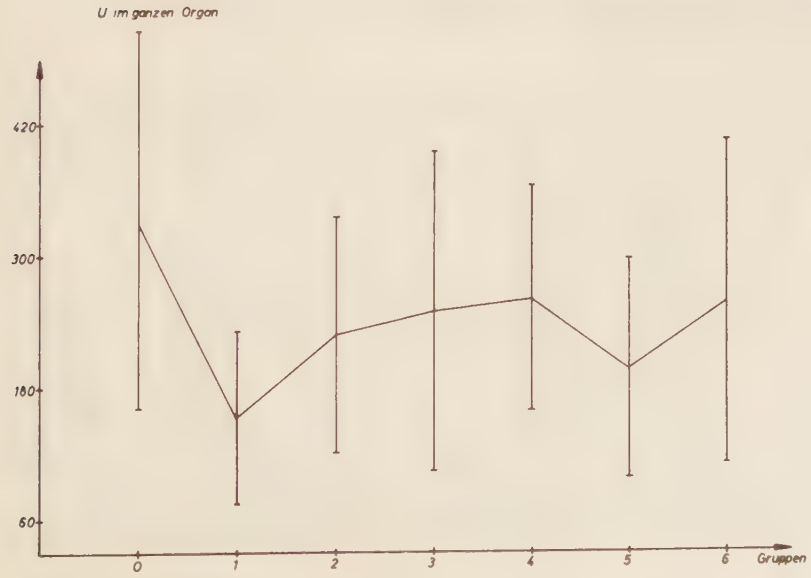


Abb. 4b Totale Aktivität der LDH

Tab. 4 c

Spezifische proteinbezogene EA der LDH

(U/gr Extraktprotein)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	178,84	74,20	-	-	-	-
2	20	169,28	49,60	-	-	-	-
3	21	184,42	97,37	-	-	-	-
4	18	188,84	82,38	4	4	162,80	33,12
5	11	172,20	168,86	5	3	149,68	20,76
6	3	165,30	62,30	6	3	120,22	39,01
K	55	185,17	89,53	K	55	185,17	89,53
	P > 0,05				P > 0,05		

Tab. 4 d

Totale proteinbezogene EA der LDH

(U/gr Protein x LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	2037	1225	-	-	-	-
2	20	2262	799	-	-	-	-
3	21	2477	1688	-	-	-	-
4	18	2627	1256	4	4	3758	825
5	11	2263	1656	5	3	2784	402
6	3	2637	1511	6	3	2466	804
K	55	3140	1783	K	55	3140	1783
	P > 0,05				P > 0,05		

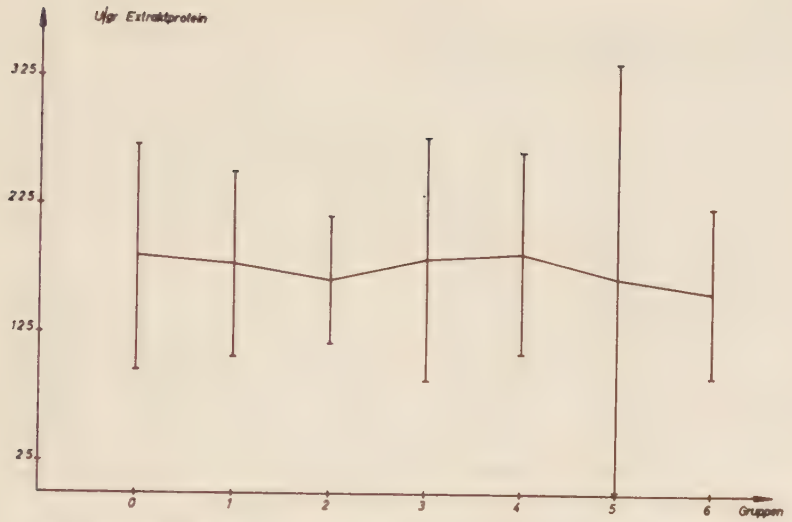


Abb. 4c Spezifische proteinbezogene Aktivität der LDH

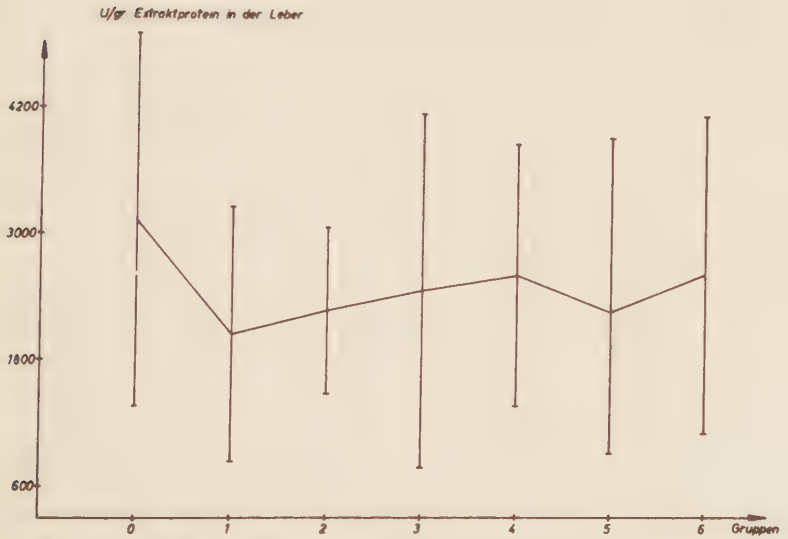


Abb. 4d Totale proteinbezogene Aktivität der LDH

Tab. 4 e

Spezifische EA der LDH x KG/LG

(U/gr Leber x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	262,57	118,95	-	-	-	-
2	20	339,69	202,84	-	-	-	-
3	21	372,23	151,89	-	-	-	-
4	18	353,54	147,28	4	4	205,69	49,04
5	11	289,77	81,86	5	3	220,49	17,41
6	3	283,76	93,53	6	3	213,21	68,38
K	55	406,08	207,20	K	55	406,08	207,20
	P < 0,05				P > 0,05		

Tab. 4 f

Spezifische proteinbezogene EA der LDH x KG/LG

(U/gr Protein x KG/LG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	3288	1383	-	-	-	-
2	20	3346	1383	-	-	-	-
3	21	3834	2161	-	-	-	-
4	18	3568	2092	4	4	2263	778
5	11	2954	2659	5	3	2205	665
6	3	2907	850	6	3	1481	648
K	55	3723	2032	K	55	3723	2032
	P > 0,05				P > 0,05		

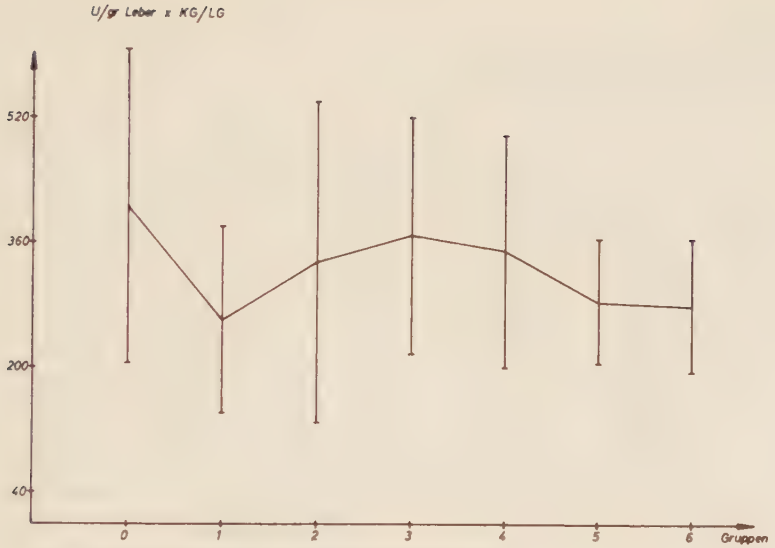


Abb. 4e Spezifische Aktivität der LDH x Körpergewicht / Lebergewicht

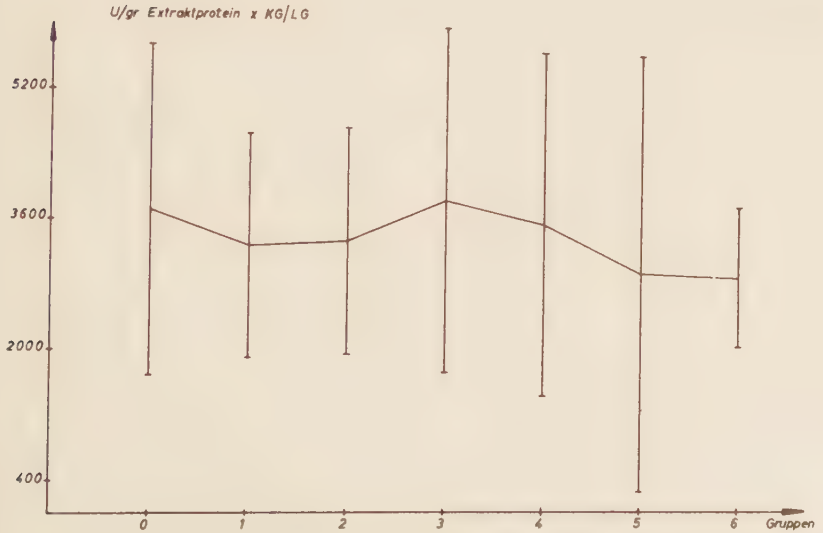


Abb. 4f Spezifische proteinbezogene Aktivität der LDH x Körpergewicht Lebergewicht

Tab. 4 g

Aktivität der LDH/100 gr KG

(U/100 gr KG)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	7,226	2,669	-	-	-	-
2	20	6,710	3,033	-	-	-	-
3	21	6,812	2,442	-	-	-	-
4	18	7,665	1,733	4	4	4,888	0,950
5	11	7,748	1,847	5	3	5,755	1,486
6	3	6,242	2,530	6	3	6,940	1,006
K	55	5,764	1,593	K	55	5,764	1,593
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

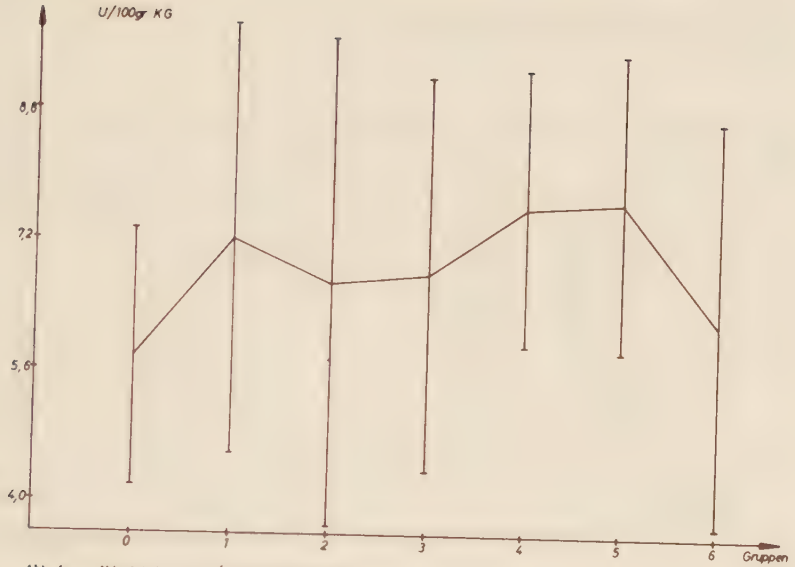


Abb. 4g Aktivitat der LDH / 100gr Korpergewicht

Tab. 5

Lebergewicht der Versuchstiere

(gr)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	11,03	3,25	-	-	-	-
2	20	13,48	3,48	-	-	-	-
3	21	13,15	3,07	-	-	-	-
4	18	13,78	3,42	4	4	23,34	4,16
5	11	11,56	3,34	5	3	18,59	1,06
6	3	15,19	6,63	6	3	20,62	3,19
K	55	16,61	3,43	K	55	16,61	3,43
	P < 0,01				P > 0,05		

Tab. 6

Körpergewichtszunahme der Versuchstiere

(gr)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	54,66	27,68	-	-	-	-
2	20	111,70	47,67	-	-	-	-
3	21	122,19	43,52	-	-	-	-
4	18	104,78	38,21	4	4	172,00	32,29
5	11	66,54	31,10	5	3	131,00	46,66
6	3	118,00	38,62	6	3	108,00	19,28
K	55	195,60	74,01	K	55	195,60	74,01
	P < 0,01				P > 0,05		

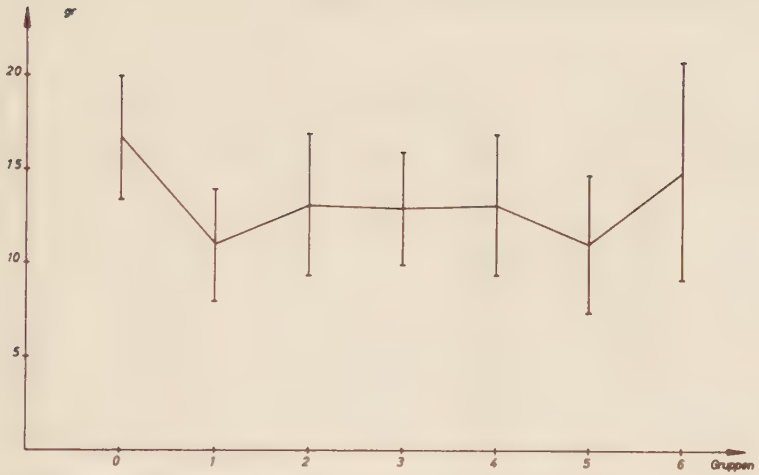


Abb. 5 Lebergewicht der Versuchstiere (gr)

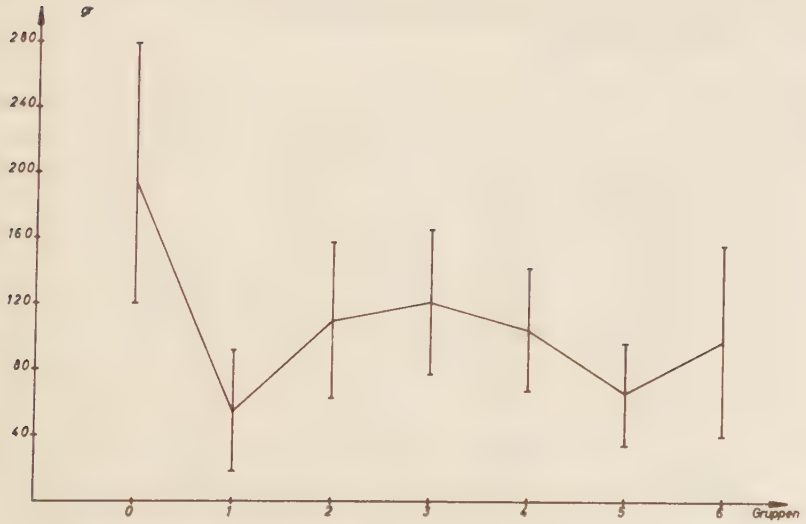


Abb. 6 Körpergewichtszunahme der Versuchstiere(gr)

Tab. 7

Gewicht der Versuchtstiere bei Tötung

(gr)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	194,59	27,69	-	-	-	-
2	20	251,70	47,67	-	-	-	-
3	21	262,19	43,52	-	-	-	-
4	18	224,78	38,21	4	4	312,00	32,29
5	11	206,73	31,28	5	3	271,00	46,66
6	3	258,67	38,43	6	3	248,00	19,28
K	55	335,05	74,81	K	55	335,05	74,81
	$P < 0,01$				$P > 0,05$		

Tab. 8

Extrahierbares Protein aus dem Leberhomogenat

(gr Protein/gr Leber)

Gr.	N	M	St	Gr.A	N	M	St
1	27	0,082	0,023	-	-	-	-
2	20	0,105	0,062	-	-	-	-
3	21	0,199	0,082	-	-	-	-
4	18	0,116	0,064	4	4	0,095	0,021
5	11	0,179	0,069	5	3	0,103	0,023
6	3	0,097	0,004	6	3	0,150	0,039
K	55	0,123	0,066	K	55	0,123	0,066
	$P < 0,05$				$P > 0,05$		

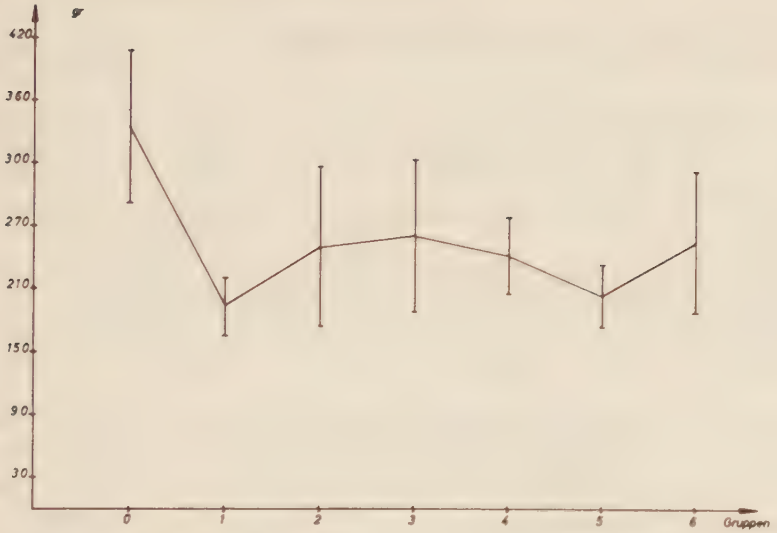


Abb. 7 Gewicht der Versuchstiere bei Tötung (gr)

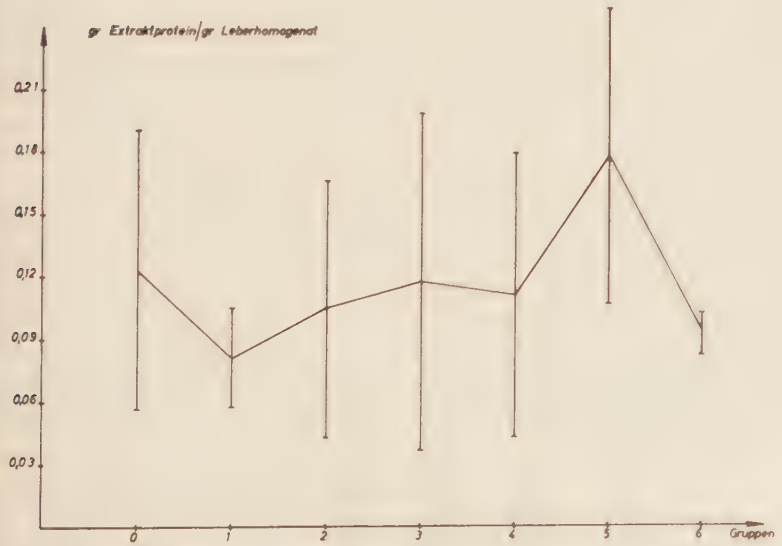


Abb. 8 Extrahierbares Protein aus dem Leberhomogenat

Tab. 9

Die Regulierbarkeit der untersuchten Enzyme

(Spezifische EA in U)

Enzym	HK	G-6-PDH	PK	LDH
Maximum	2,90	6,48	0,69	18,88
Minimum	1,63	1,24	0,38	13,86
Kontrollwert	2,02	0,77	0,38	19,52

Die Regulierbarkeiten der Aktivitäten
ausgedrückt durch die Maxima als Vielfache der Minima
(Spezifische Aktivitäten)

Kleinster gemessener Mittelwert = 1
Kontrollwert =---

Abb.9

3. Besprechung der Versuchsergebnisse

Hexokinase

Die Aktivität der HK bleibt in allen unseren Gruppierungen mehr oder weniger gleich. Sie schwankt um einen Mittelwert von 2,4 U/gr Frischgewicht, und es ist keine einheitliche Tendenz der Erhöhung oder Erniedrigung festzustellen.

In der Varianzanalyse sind die Ergebnisse mit P kleiner 0,05 gerade noch statistisch signifikant. In anderen Bezugssystemen läßt sich dagegen keine statistisch signifikante Differenz nachweisen.

Eine Ausnahme machen die Bezugssysteme, bei denen die Enzymaktivitäten auf das extrahierbare Protein umgerechnet werden. Aber hier sind die deutlich signifikanten Unterschiede nicht auf eine Änderung der Enzymaktivitäten, sondern auf eine drastische Änderung des Proteingehalts der Leber zurückzuführen.

Der Gehalt an HK bleibt während des ganzen Versuchs im wesentlichen konstant. Siehe Zeichnung Gesamtaktivität. Dies ist erstaunlich, wenn man sich vorstellt, wie stark die morphologischen Veränderungen sind. In der Literatur wurde ja ein sehr wechselhaftes Bild im Verlauf der Cancerisierung beschrieben (THOMAS, 87).

Mit Hilfe der Enzymmuster, die anhand von menschlichen Geweben (SCHMIDT und SCHMIDT, 81) angestellt wurden, kann man erkennen, daß die HK in verschiedenen Gewebstypen keine sehr großen Differenzen erkennen läßt. Wenn trotz der verschiedenen Zellpopulation in der toxischen oder cancerösen Leber die Enzymaktivität konstant bleibt, so kann dies darauf beruhen, daß durch die Summe der verschiedenen Zelltypen spezifische Enzymaktivitätsänderungen einer bestimmten Zellart überdeckt werden.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

Besonders eindrucksvoll sind die Enzymaktivitätsänderungen bei der G-6-PDH.

In allen unseren Bezugssystemen kommt es zu einem Enzymaktivitätsanstieg auf etwa das 10-fache des Ausgangswertes. Unsere Befunde sind für alle Bezugssysteme hoch signifikant.

Der Anstieg, der auch schon von anderen Autoren beobachtet wurde, ist geradezu klassisch. Die G-6-PDH, das alte Warburgsche Zwischenferment, katalysiert den ersten Schritt, der zum Pentosephosphat-Abbauweg (HORECKER-WARBURG-ZYKLUS) führt. Die Befunde sind eigentlich nur so zu deuten, daß dieser Pentosephosphat-Zyklus im Verlauf der toxischen Schädigung und Cancerisierung in ungewöhnlich starkem Ausmaß beschritten wird. Dies könnte mit einem vermehrten Bedarf der im Horecker-Zyklus produzierten Metaboliten zur Zellneubildung erklärt werden.

Gerade über die G-6-PDH findet man in der Literatur sehr wechselnde Angaben, die einem aber verständlich werden, wenn man weiß, wieviele Faktoren unberücksichtigt geblieben sind. In histologischen Arbeiten zum Beispiel wurde ein zum Teil völliger Schwund der G-6-PDH Aktivität vermutet; aber die in diesen Arbeiten angegebenen Methoden enthalten sicher viele Fehlermöglichkeiten.

Pyruvat-Kinase

Die Aktivität der PK zeigt während des ganzen Verlaufs der Cancerisierung eine steigende Tendenz von 0,38 auf ca. 0,69 U/gr Frischgewicht. Nur die letzte Gruppe, die lediglich drei Tiere umfaßt, fiel etwas aus dem Rahmen, lag aber mit 0,54 U/gr Frischgewicht im Mittel immer noch beträchtlich über der Vergleichsgruppe.

Nach KREBS (44) verändert sich die Aktivität der PK unter bestimmten Voraussetzungen folgendermaßen: Ernährungsstörungen, die die Gluconeogenese fördern, wie Hunger, führen zu einem Abfall, kohlenhydratreiche Diät führt zu einem Anstieg der PK.

Der Anstieg deutet darauf hin, daß die Umschaltung (44) der Stoffwechselwege in der Leber zum Durchfluß von Kohlenhydraten erfolgt, was vielleicht mit dem zunehmenden Gärungsstoffwechsel in Bezug gebracht werden kann.

In den anderen Bezugssystemen kommen im wesentlichen ähnliche Ergebnisse zu Tage. Den deutlichsten Anstieg der PK findet man, wenn man die Aktivität auf 100 gr Körpergewicht bezieht. Dies ist wiederum darauf zurückzuführen, daß das Körpergewicht der Ratten durch den toxischen Einfluß des N-Nitrosomorpholins nicht mehr wesentlich stieg.

Lactat-Dehydrogenase

Bei der LDH ist eigentlich der größte Sprung in der Aktivität zwischen der Vergleichsgruppe der gesunden Tiere und den Tieren der ersten Gruppe zu beobachten, der zur statistischen Signifikanz der Varianzanalyse erheblich beiträgt. Bei der Cancerisierung und bei den immer größer werdenden knotigen Veränderungen findet man keine ins Auge fallenden Unterschiede mehr.

Die Ergebnisse sind eigentlich enttäuschend. Die LDH ist eines der wenigen Enzyme, das in der menschlichen Tumordiagnostik eine gewisse Bedeutung erlangt hat. Deshalb hätte man gerade bei diesem Enzym einen hohen Anstieg vermuten können.

Unsere Befunde wären eine Stütze für die Meinung jener Autoren, die annehmen, daß die erhöhte LDH bei Tumorträgern gar nicht aus den Tumorgeweben stammt, sondern vielleicht nur einen erhöhten Erythrocyten-Umsatz signalisiert.

V. D I S K U S S I O N

Eines der schwierigsten Probleme bei der Durchführung unserer Arbeit war die Klassifizierung der erhobenen Befunde.

Aus den oben genannten Gründen haben wir uns für eine Einteilung in Stadien nach grob morphologischen Befunden entschieden. Wir glauben damit die Entwicklung, die eine Leberzelle vom Gesunden bis zum grobknotigen Tumor macht, besser in den Griff zu bekommen als mit allen anderen von uns durchgerechneten Bezugssystemen. Die von uns erhobenen Befunde über die Enzymaktivitäten sprechen für diese Ansicht.

Zwei Enzyme (HK und LDH) bleiben durch die toxische Schädigung und Cancerisierung weitgehend unbeeinflußt. Bei zwei anderen Enzymen (PK und G-6-PDH) haben wir einen unterschiedlich starken Anstieg beobachtet.

In einer parallel dazu durchgeführten Arbeit konnte der Abfall einiger Enzyme beobachtet werden, so daß man sagen kann, daß sich jedes Enzym in einer charakteristischen Weise verhält.

Wir haben auch die anderen Bezugssysteme nach Tränkungsdauer und wahrscheinlich inkorporierter Menge von N-Nitrosomorpholin durchgerechnet und zum Teil graphisch dargestellt. Hierbei haben wir bei praktisch keinem Enzym eine so klare Reaktion gesehen, wie bei der Klassifizierung nach der Knotengröße.

Unsere Fragestellung war, in welcher Weise während der toxischen Schädigung und Cancerisierung die Enzymaktivitäten Änderungen erfahren, die über das Maß der genetisch determinierten Variationsbreite hinausgehen, um daraus auf eine Änderung der Wege der Metaboliten schließen zu können.

Natürlich kann man aus den Enzymaktivitäten von nur vier Enzymen keine weitreichenden Schlüsse ziehen. Aber trotzdem möchten wir annehmen, daß neben einer verstärkten Glykolyse vielleicht auch in unserem Modell der N-Nitrosomorpholin geschädigten Leber der Pentosephosphatabbauweg verstärkt beschritten wird.

Wir haben Vergleichsuntersuchungen über die Enzymaktivitätsän-

derungen der G-6-PDH nach Gabe von Tetrachlorkohlenstoff sowie unter Luminal- oder Galaktosaminschädigung. Danach ist die Enzymaktivität der G-6-PDH in relativ weiten Grenzen regelbar, so daß die starke Steigerung der G-6-PDH-Aktivität wahrscheinlich nicht den Ausdruck einer direkten Schädigung des für die G-6-PDH verantwortlichen Operatorgens darstellt. Wahrscheinlich ist dieser Anstieg der G-6-PDH die Folge der Anpassung an eine Zellschädigung, die an einer anderen noch unbekannten Stelle zu suchen ist.

Wir haben in unserer Arbeit nur Enzyme aus den sogenannten Hauptketten des Stoffwechsels untersucht. Vielleicht würde eine Schädigung des genetischen Bauplanes eines Enzyms aus diesen Hauptketten den Tod der Zelle mit sich bringen, weil mit der Zerstörung eines Enzyms dieser Hauptkette die Energieversorgung der betroffenen Zelle wahrscheinlich in tödlicher Weise beeinträchtigt wird.

Durch konsequente Untersuchung weiterer Enzyme aus den verschiedensten Stoffwechselketten müßte sich der Ort einer vielleicht vorhandenen genetischen Schädigung an Hand eines Modells, wie zum Beispiel der Cancerisierung mit N-Nitrosomorpholin, einkreisen lassen.

VI. Z U S A M M E N F A S S U N G

Unter dem Ablauf der Cancerisierung der Leber wurden an Albino-Inzuchtratten des Wistar-Stammes B 47 die Enzymaktivitäten der Hexokinase (HK), Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH), Pyruvat-Kinase (PK) und Lactat-Dehydrogenase (LDH) untersucht. Zur Induktion der Tumoren verwendeten wir das hepatotrope Carcinogen N-Nitrosomorpholin in einer Konzentration von 12 mg/100 ml im Trinkwasser. Die Untersuchungen erfolgten regelmäßig im Abstand von 10 Tagen mit jeweils 10 N-Nitrosomorpholin getränkten Tieren und 5 Kontrolltieren.

Da die Entwicklung der Tumoren aber auch unter dieser Anordnung unterschiedlich verlief, ordneten wir die Gruppen nach dem grob morphologischen Befund.

Die ermittelten Enzymaktivitäten wurden auf folgende Bezugssysteme umgerechnet;

Spezifische Aktivität
Gesamtaktivität
Spezifische proteinbezogene Aktivität
Proteinbezogene Gesamtaktivität

Spezifische Aktivität x $\frac{\text{Körpergewicht}}{\text{Lebergewicht}}$

Spezifische proteinbezogene Aktivität x $\frac{\text{Körpergewicht}}{\text{Lebergewicht}}$

Aktivität / 100 gr Körpergewicht

Die gewonnenen Ergebnisse wurden statistisch berechnet und in Form von Tabellen und Abbildungen dargestellt.

Die Enzymaktivitäten der LDH und HK lassen während der Cancerisierung keine charakteristische Tendenz erkennen.

Die PK und die G-6-PDH zeichnen sich im gesamten Versuchsablauf durch einen statistisch zum Teil hoch signifikanten Anstieg aus. Wir sehen darin eine Umstellung der Stoffwechselwege. Diese ist wahrscheinlich in der von WARBURG gefundenen Umstellung der Krebszellen auf Gärungsstoffwechsel zu suchen.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ALBERT, Z. and M. ORLOWSKI:

Some Peculiar Biological and Biochemical Properties of a Mouse Hepatoma Induced by Chrysoidin.
III. Activity of Glucose-6-phosphatase.
Journal of the National Cancer Institute 25 No. 3, S. 461 - 464 (1960).

2. BAUER, K.H.:

Das Krebsproblem.
IV. Biochemie des Krebsgeschehens, S. 161 (1963).

3. BECKER, H.K.A.:

Zahnmed. Diss. Würzburg 1971

4. BERGER, L., M.W. SLEIN, S.P. COLOWICK und C.F. CORI:

J. Gen. Physiol 29, S. 379 (1946).

5. BERNASEK, G.:

Der Organismus als Ganzes und die Geschwulstzellen.
Archiv für Geschwulstforschung 11, S. 290 - 293 (1957).

6. BOLLMANN, H.J.:

Zahnmed. Diss. Würzburg 1971.

7. BOYLAND, E.:

The Mechanism of Tumor Induction by Aromatic Amines and Other Carcinogens.
Z.f.Krebsforschung 65, S. 378 - 384 (1963).

8. BRÜNGER, J.:

Zahnmed. Diss. Würzburg 1971.

9. BÜCHER, Th.:

Enzyme unter biologischem Aspekt.
In: Erbliche Stoffwechselkrankheiten.
Verlag Urban und Schwarzenberg, München und Berlin, S. 125 - 141 (1960).

10. BURGESS, E.A. and B. SYLVEN:

Lactic Dehydrogenase Activity in Plasma and Interstitial Fluid during Growth of Mouse Tumors.
Cancer Research 23, S. 714 - 719 (1963).

11. BURKE, W.T. and E.C. GANGLOFF:

Metabolic Profiles during Carcinogenesis and Related Conditions in Hepatic Tissue.
Cancer Research 25, S. 833 - 839 (1965).

12. CAPUTTO, R., H.S. BARRA and F.A. CUMAR:

Carbohydrate Metabolism.
Annual Review of Biochemistry 36 Part I, S. 225 - 233 (1967).

13. CHRISTIAN, W. und O. WARBURG:

Pyridin, der H-übertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyrimidin-Nucleotide).
Biochem.Z. 287, S. 291 - 328 (1936).

14. DANNENBERG, H.:

Stoffwechsel und endogene Krebsentstehung.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung II, S. 36 - 49 (1957).

15. DANNENBERG, H.:

Beitrag zur krebserzeugenden Wirkung aromatischer Kohlenwasserstoffe und verwandter Verbindungen.
Z.f.Krebsforschung 63, S. 102 - 117 (1959).

16. DONTENWILL, W. und U. MOHR:

Die organotrope Wirkung der Nitrosamine.
Z.f.Krebsforschung 65, S. 166 - 167 (1962).

17. DOUGLAS, W.R.:

Relationships of Enzymology to Cancer: A Review.
British Journal of Cancer XVII No. 3, S. 415 - 445 (1963).

18. DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, D. SCHMÄHL und M. MÜLLER:

Chemische Konstitution und carcinogene Wirkung bei Nitrosaminen.
Naturwissenschaften 48, S. 134 - 135 (1961).

19. DRUCKREY, H., F. BRESCIANI und H. SCHNEIDER:

Atmung und Glykolyse der Rattenleber während der Behandlung mit 4-Dimethylaminoazobenzol.
Z. Naturforschung 13, S. 514 (1958).

20. DRUCKREY, H. und R. PREUSSMANN:

Erzeugung von Lungenkrebs durch subcutane Injektion von N,N-Diamylnitrosamin an Ratten.
Naturwissenschaften 49, S. 111 - 112 (1962).

21. DRUCKREY, H. und D. SCHMÄHL, W. DISCHLER und A. SCHILDBACH:

Quantitative Analyse der experimentellen Krebserzeugung.
Naturwissenschaften 49, S. 223 (1962).

22. DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC, H.D. MENNEL und R. PREUSSMANN:

Selektive Erzeugung von Carcinomen der Nasenhöhle bei Ratten durch N,N'-Di-nitrosopiperazin, Nitrosopiperidin, Nitrosomorpholin, Methyl-allyl-, Dimethyl- und Methyl-vinyl-nitrosamin.
Z.f.Krebsforschung 64, S. 138 - 150 (1963).

23. DRUCKREY, H., D. STEINHOFF, R. PREUSSMANN und S. IVANKOVIC:

Erzeugung von Krebs durch eine einmalige Dosis von Methylnitroso-Harnstoff und verschiedenen Dialkylnitrosaminen.
Z.f.Krebsforschung 66, S. 1 - 10 (1964).

24. DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, S. IVANKOVIC und D. SCHMÄHL:

Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten.
Z.f.Krebsforschung 69, S. 103 - 201 (1967).

25. EULER v., H., B.v. EULER und H. HASSELQUIST:

Entwicklungshemmung und Entwicklungsbeschleunigung von Tumoren durch N-haltige Stoffe.
Z.f.Krebsforschung 60, S. 278 - 282 (1955).

26. FIALA, S. und A.E. FIALA:

On the Correlation between Metabolic and Structural Changes during Carcinogenesis in Rat Liver.
British Journal of Cancer 13, S. 136 - 151 (1959).

27. FISHMAN, W. H.:

Enzymes and Cancer.
In: The Physiopathology of Cancer.
S. 732 - 760 (1953).

28. FRIEDRICH-FRESKA, H., W. GÖSSNER und P. BÖRNER:

Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach Dauergaben von Diäthylnitrosamin.
Z.f.Krebsforschung 72, S. 226 - 239 (1969).

29. GRAFFI, A.:

Betrachtungen zu den Theorien der Krebsentstehung.
Archiv für Geschwulstforschung 22, S. 13 - 39 (1963).

30. GRIFFIN, A.C., L. CANNING, B. HOLLAND and B. MALICK.

Further Studies on Tumor and Liver Amino Acid Incorporating Systems.
Cancer Research 25, S. 318 - 323 (1965).

31. GRUNDMANN, E. und H. SIEBURG:

Die Histogenese und Cytogenese des Lebercarcinoms der Ratte durch Diäthylnitrosamin im lichtmikroskopischen Bild.
Beitr.Path.Anat. 126, S. 58 - 88 (1962).

32. GURSTER, A.:

Med. Diss. Würzburg 1969.

33. HADJIOLOV, D.C.:

Histochemical Studies of Glucose-6-Phosphatase Activity in the Early Proliferative Stage of Liver Carcinogenesis.
Z.f.Krebsforschung 70, S. 109 - 114 (1967).

34. HADJIOLOV, D. und A. DIKOW:

Die Glucose-6-Phosphatase und Aldolase in primären, Diäthylnitrosamin-induzierten Lebertumoren.
Z.f.Krebsforschung 74, S. 48 - 54 (1970).

35. HOGEBOOM, G.H., W.C. SCHNEIDER and G.E. PALLADE:

Cytochemical studies of mammalian tissues. I. Isolation of the intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material.
J. Biol. Chem. 172, S. 619 (1948).

36. HECKER, E.:

Neue biochemische Gesichtspunkte der Kanzerisierung.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung VI, S. 77 - 96 (1967).

37. HEISE, E. and M. GÖRLICH:

Exptl. Cell. Res., S. 289 - 300 (1964).

38. HOCH-LIGETI, C., L.T. LOBL and J.M. ARVIN:

Effect of Nitrosamine Derivates on Enzyme Concentrations in Rat Organs during Carcinogenesis.
British Journal of Cancer 18, S. 271 - 284 (1964).

39. HOCH-LIGETI, C., E. STUTZMAN, H.H. GRANTHAM, Jr., T.J. BROWN, Jr. and J.M. ARVIN:

Enzyme Studies of the Liver of Rats during Carcinogenesis by Diethylnitrosamine.
British Journal of Cancer 20, S. 174 - 183 (1965).

40. HOFFMANN, F. und A. GRAFFI:

Nasenhöhlentumoren bei Mäusen nach percutaner Diäthylnitrosaminapplikation.
Archiv für Geschwulstforschung 23, S. 274 - 288 (1964).

41. KNECHT, M.:

Verteilung und Verweilzeit von Dimethylnitrosamin im Organismus der Ratte.
Z.f.Krebsforschung 69, S. 293 - 296 (1967).

42. KNOX, W.E.:

The Enzymic Pattern of Neoplastic Tissue.
Advances in Cancer Research 10, S. 117 - 163 (1967).

43. KREBS, H.A. and L.V. EGGLESTON:

The role of pyruvate kinase in the regulation of gluconeogenesis.
Biochem. J. 94, S. 3 C (1964).

44. KREBS, H.A.:

Control Mechanism of Carbohydrate Metabolism.
In: Federation of European Biochemical Societies, 2nd Meeting Abstractions, Vienna.
S. 351 - 361 (1965).

45. KROKOWSKI, E.:

Betrachtung zur Dynamik des Geschwulstwachstums.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung V, S. 189 - 192 (1964).

46. KUBOWITZ, F. und P. OTT:

Biochem.Z. 314, S. 94 (1943).

47. KUBOWITZ, F. und P. OTT:

Biochem.Z. 317, S. 193 (1944).

48. KUHN, O. und H.U. KOECKE:

Untersuchungen zur lokalen Einwirkung von Methylcholanthren auf die Leber der Maus und der Frage des primären Lebercarcinoms.
Z.f.Krebsforschung 62, S. 25 - 37 (1957).

49. KUNITZ, M. und M.R. MC DONALD:

J.Gen.Physiol. 29, S. 393 (1946).

50. KÜNKEL, H.A.:

Über das Mutationsspektrum einiger organspezifischer cancerogener Substanzen.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung V, S. 138 - 142 (1964).

51. KUSCHINSKY, G. und H. LÜLLMANN:

Lehrbuch der Pharmakologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 146 (1967).

52. LANGER, E.:

Kernveränderungen an Rattenlebern unter Einwirkung des kanzerogenen Stoffes 4-Dimethylamino-azobenzol.
Z.f.Krebsforschung 52, S. 443 (1942).

53. LAUBER, W. und P. DANNENBERG:

Zur Morphologie der durch p-Dimethyl-amino-azobenzol erzeugten Leberveränderungen und Tumoren bei der Ratte.
Z.f.Krebsforschung 61, S. 327 - 345 (1956).

54. LOHMANN, K. und O. MEYERHOF:

Biochem.Z. 273, S. 60 (1934).

55. LÜCKING, Th. und H. KRÖGER:

Verhalten des "Aggregat-Enzyms" in der Rattenleber während der Carcinogenese mit N-Nitroso-morpholin.
Z.f.Krebsforschung 69, S. 202 - 204 (1967).

56. LUDEWIG, S. and S. CHANUTIN:

Distribution on enzymes in the liver of control and x-irradiated rats.
Arch.Biochem. 29, S. 441 - 444 (1950).

57. MAGEE, P.N. and J.M. BARNES:

The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitros-amine.
Brit.J.Cancer 10, S. 114 - 122 (1956).

58. MAGEE, P.N. and J.M. BARNES:

Brit.J.Cancer 10, S. 114 (1956).

59. MAGEE, P.N. and J.M. BARNES:

Carcinogenic Nitroso Compounds.
Advances in Cancer Research 10, S. 164 - 247 (1967).

60. MAN DE, J.C.H.:

Effect of Cortisone on the Fine Structure, Glycogen Content and Glucose-6-phosphatase Activity of Hepatic Cells in Fasted and Dimethylnitrosamine-treated Rats.
Cancer Research 24, S. 1347 - 1350 (1964).

61. MEYERHOF, O.:
Biochem.Z. 183, S. 176 (1927).

62. MEYERHOF, O., P. OHLMEYER, W. GENTNER und H. MAIER-LEIBNITZ:
Biochem.Z. 298, S. 396 (1938).

63. MORRIS, H.P.:
Some Growth, Morphological, and Biochemical Characteristics of Hepatoma 5123 and Other New Transplantable Hepatomas.
Experimental Tumor Research 3, S. 370 - 411 (1963).

64. MÜHLBOCK, O.:
Karzinogenese, Endogenese und Exogenese.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung II, S. 13 - 25 (1957).

65. MÜLLER, H.-A.:
Morphologische Untersuchungen zur Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Lunge der Maus.
Z.f.Krebsforschung 66, S. 303 - 309 (1964).

66. OSSWALD, G.:
Zahnmed. Diss. Würzburg 1971.

67. PROSCH, W.:
Zahnmed. Diss. Würzburg 1970.

68. SANDER, J. und G. BURKLE:
Induktion maligner Tumoren bei Ratten durch gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen.
Z.f.Krebsforschung 73, S. 54 - 66 (1969).

69. SCHAUM, W.:
Med. Diss. Würzburg 1970.

70. SCHMÄHL, D. und R. PREUSSMANN:
Cancerogene Wirkung von Nitrosodimethylamin bei Ratten.
Naturwissenschaften 46, S. 175 (1959).

71. SCHMÄHL, D. und R. PREUSSMANN:

Leberkrebs erzeugende Wirkung von Diäthylnitrosamin nach oraler Gabe bei Ratten.
Naturwissenschaften 47, S. 89 (1960).

72. SCHMÄHL, D., THOMAS, C. und K. KÖNIG:

Leberkrebs erzeugende Wirkung von Diäthylnitrosamin nach rectaler Applikation bei Ratten.
Z.f.Krebsforschung 65, S. 529 - 530 (1963).

73. SCHMÄHL, D.:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
Krebsforschung und Krebsbekämpfung V, S. 127 - 129 (1964).

74. SCHMÄHL, D. und C. THOMAS:

Erzeugung von Lungen- und Lebertumoren mit N,N'-Di-nitrosopiperazin.
Z.f.Krebsforschung 67, S. 11 - 15 (1965).

75. SCHMÄHL, D. und F.W. KRÜGER:

Fehlen einer carcinogenen Wirkung von Dimethylthionitrosamin bei Ratten.
Z.f.Krebsforschung 73, S. 192 - 193 (1970).

76. SCHMÄHL, D., C. THOMAS und K. KÖNIG:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
I. Mitteilung: Versuche zur Krebserzeugung an Ratten bei gleichzeitiger Verfütterung von Diäthylnitrosamin und 4-Dimethylamino-azobenzol.
Z.f.Krebsforschung 65, S. 342 - 350 (1963).

77. SCHMÄHL, D., C. THOMAS und H. BRUNE:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
II. Mitteilung: Versuche zur Krebserzeugung bei Mäusen bei gleichzeitiger Applikation von Urethan und 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen.
Z.f.Krebsforschung 66, S. 297 - 302 (1964).

78. SCHMÄHL, D., C. THOMAS, W. SATTLER und G.F. SCHELD:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
III. Mitteilung: Versuche zur Krebserzeugung bei Ratten bei gleichzeitiger Gabe von Diäthylnitrosamin und Tetrachlorkohlenstoff bzw. Äthylalkohol; zugleich ein experimenteller Beitrag zur Frage der "Alkoholcirrhose".
Z.f.Krebsforschung 66, S. 526 - 532 (1965).

79. SCHMÄHL, D. und C. THOMAS:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
IV. Mitteilung: Versuche zur Krebserzeugung an Ratten bei gleichzeitiger oraler Gabe von Diäthylnitrosamin und 4-Dimethylaminostilben.
Z.f.Krebsforschung 67, S. 135 - 140 (1965).

80. SCHMÄHL, D., E. STUTZ und C. THOMAS:

Experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese.
V. Mitteilung: Versuche zur Krebserzeugung an Ratten bei gleichzeitiger Applikation von Röntgenstrahlen und Diäthylnitrosamin oder 4-Dimethylamino-diphenyl.
Z.f.Krebsforschung 68, S. 68 - 72 (1966).

81. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT:

Enzymmuster menschlicher Gewebe.
Klinische Wochenschrift 19, S. 957 (1960).

82. STEINHOFF, D. und B. TSCHIN KUK:

Prüfung von N-oxyd-Lost auf cancerogene Wirkung an Ratten.
Z.f.Krebsforschung 62, S. 112 - 115 (1957).

83. STRAUB, F.B.:

Biochem.J. 34, S. 483 (1940).

84. TAKAYAMA, S. and M. MURAMATSU:

Incorporation and Tritiated Dimethylnitrosamine into Subcellular Fractions of Mouse Liver after Long Term Administration of Dimethylnitrosamine.
Z.f.Krebsforschung 73, S. 172 - 190 (1970).

85. TELANDER, R.:

Zahnmed. Diss. Würzburg 1970.

86. TERRACINI, B., PALESTRO, G., M.R. GIGLIARDI and R. MONTESANO:
Carcinogenicity of Dimethylnitrosamine in Swiss Mice.
B.J.of Cancer 20, S. 871 - 876 (1966).

87. THOMAS, C.:
Zur Morphologie der durch Diäthylnitrosamin erzeugten Leberveränderungen und Tumoren bei der Ratte.
Z.f.Krebsforschung 64, S. 224 - 233 (1961).

88. THOMAS, C. und D. SCHMÄHL:
Zur Morphologie der durch Diäthylnitrosamin erzeugten Lebertumoren bei der Maus und dem Meerschweinchen.
Z.f.Krebsforschung 65, S. 531 - 536 (1963).

89. TOTH, B., P.N. MAGEE and P. SHUBIK:
Carcinogenesis Study with Dimethylnitrosamine Administered Orally to Adult and Subcutaneously to Newborn BALB/ c Mice.
Cancer Research 24, S. 1712 - 1716 (1964).

90. WEBER, G. and A. CANTERO:
Fructose-1,6-diphosphatase and Lactic Dehydrogenase Activity in Hepatoma and in Control Human and Animal Tissue.
Cancer Research 19, S. 763 - 768 (1959).

91. WEBER, G.:
Behavior of Liver Enzymes in Hepatocarcinogenesis.
Advances in Cancer Research 6, S. 403 - 493 (1961).

92. WEBER, G.:
Behavior and Regulation of Enzyme Systems in Normal Liver and in Hepatomas of Different Growth Rates.
Advances in Enzyme Regulation 1, S. 321 - 340 (1963).

93. WEBER, G. and A. CANTERO:
Lactic Dehydrogenase Studies in Hepatoma and in Human and Animal Control Tissues.
Proc.Am.Assoc.Cancer Research 2, S. 72 (1956).

94. WEICHSELBAUM, T.E.:
Am.J.Clin.Path. 16, Tech.Sect. 10, S. 40 (1940).

95. WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN, Documenta Geigy, J.R. Geigy A.G.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. H. Haug für die freundliche Überlassung des Themas, seine stete Diskussionsbereitschaft, seine vielen Ratschläge und für die Übernahme des Referates.

Herrn Professor Dr. med. H. Franke danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates.

Für die Hilfe in mathematischen Fragen danke ich Herrn Dr. B. Knauer.

L E B E N S L A U F

Am 13. April 1942 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Hans Claar und seiner Ehefrau Doris, geb. Boll, in Kassel geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Kassel war ich bis 1962 Schüler der Albert-Schweitzer-Schule, Gymnasium in Kassel. Anschließend besuchte ich die Goetheschule Kassel, Gymnasium, wo ich 1964 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1964 begann ich an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg das Studium der Zahnmedizin.

Die Zahnärztliche Vorprüfung legte ich im Wintersemester 1967/68 ab. Die Zahnärztliche Prüfung bestand ich am 24. Februar 1971.

Vom Bayerischen Staatsministerium des Innern habe ich am 11. März 1971 die Approbation als Zahnarzt erhalten.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die Dissertation selbständig angefertigt, dabei keine anderen Hilfsmittel als die im Quellen- und Literaturverzeichnis und in den Anmerkungen genannten benutzt, alle aus Quellen- und Literaturverzeichnis ganz oder annähernd entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht und einzeln auch die Fundstellen nachgewiesen habe.

Ich habe die Dissertation noch keiner anderen Fakultät vorgelegt mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erwerben.

Würzburg, den 16. Dezember 1971 Hans-Peter Claar

Schnelldruck-Böhler, 87 Würzburg, Seilerstr. 10